

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze



Katedra fyziologie rostlin



**Ovlivnění metabolismu sacharidů cytokininy
a interakce sacharidové a cytokininové signalizace**

Impact of cytokinins on sugar metabolism
and interaction of sugar nad cytokinin signalling

bakalářská práce

Jan Ponert

Školitel: RNDr. Helena Lipavská, PhD.

Praha 2007

Obsah

Abstrakt	2
Abstract	2
Použité zkratky	3
1. Úvod	4
1.1. Cytokinininy	4
1.2. Sacharidy	6
2. Vliv sacharidů a cytokininů na konkrétní pochody v rostlinách	8
2.1. Ovlivnění metabolismu a signalizace trehalózy cytokinininy	8
2.2. Buněčný cyklus	9
2.2.1. Vztah cytokininů a regulace buněčného cyklu	9
2.2.1.1. Cdc25-like jako fosfatáza	13
2.2.1.2. Cdc25-like jako arsenátoreduktáza	13
2.2.2. Vztah sacharidů a regulace buněčného cyklu	15
2.2.3. Interakce sacharidů a cytokininů v regulaci buněčného cyklu	17
2.3. Fotomorfogeneze	19
2.3.1. Vztah mezi sacharidy a fotomorfogentickými signály	20
2.3.2. Vztah mezi cytokinininy a fotomorfogenetickými signály	22
2.3.2.1. Signalizace cytokininů a kryptochromů	22
2.3.2.2. Signalizace cytokininů a fytochromů	23
2.3.3. Vztah sacharidového a cytokininového signálu k fotomorfogenezi	24
3. Závěr	25
Poděkování	26
Použitá literatura	26

Abstrakt

Rostliny řídí svůj život převážně chemickými signály. Vliv fytohormonů je znám poměrně dlouhou dobu, ale signalizace sacharidů byla objevena relativně nedávno. V této práci je shrnuto společné působení cytokininů a sacharidů na regulaci buněčného cyklu a účinků fotomorfogentických signálů, jakožto zásadních dějů řídících život dospělé rostliny. Je zmíněn také vliv cytokininů na metabolismus trehalózy, významného signálního cukru. Ukázalo se, že cytokininy i sacharidy většinou buněčný cyklus stimulují, ale mohou ho také inhibovat, nejspíše v závislosti na typu pletiva a jejich koncentraci. Signální dráhy sacharidů a cytokininů a fotomorfogenetické signální dráhy se vzájemně ovlivňují. Signálních drah však zřejmě bude více a jsou uvažovány jejich možné vztahy. Interakce signálu sacharidů a cytokininů by také mohly hrát významnou úlohu v řízení vnitřních rostlinných hodin.

Klíčová slova:

buněčný cyklus, cytokinin, fotomorfogeneze, interakce, sacharid, signalizace, trehalóza

Abstract

Plants control their lives mostly by chemical signals. While influence of phytohormones is known for a relatively long time, sugar signalling has been reported relatively recently. In this work joint operation of cytokinins and saccharides on cell cycle regulation and on photomorphogenesis signalling is summarised, because cell cycle and photomorphogenesis are very important processes in plant life. Cytokinin impact on trehalose metabolism is also mentioned, because of trehalose function as a signalling molecule. It turned out, cytokinins and saccharides mostly stimulate cell cycle progression, but they can also have an inhibitory effect; probably in dependence on plant tissue type and their concentrations.

Sugar impact on photomorphogenetic signal transduction is influenced by cytokinins and *vice versa*. Obviously there might be other signalling pathways and their possible relationship is discussed. Interaction of sugar and cytokinin signals can take an important function in plant internal clock regulation.

Keywords:

cell cycle, cytokinin, photomorphogenesis, saccharide, signalization, trehalose

Použité zkratky

ABA	kyselina abscisová
Acr	arsenátoreduktáza
AHK	Arabidopsis HK
AHK4	AHK4/cytokinin response 1/woodenleg (AHK4/CRE1/WOL)
AHP	Arabidopsis HP
ARR	Arabidopsis RR
A-ARR	ARR typu A
B-ARR	ARR typu B
BAP	benzylaminopurin
CAK	CDK aktivační kináza
Cdc25	fosfatáza aktivující CDK defosforylací
Cdc25-like	fosfatáza blízká Cdc25 (také Arath;Cdc25, AtCdc25)
CDK	cyklin-dependentní kináza
CKX	cytokinioxidáza
Cop1	E3 ubiquitin ligáza zodpovědná za degradaci Hy5
Cry	kryptochrom
Cyc	cyklin
FR	dlouhovlnné červené světlo (kolem 730 nm)
HK	membránové histidinové receptorové kinázy
HP	fosfotransferové proteiny (histidine phosphotransfer proteins)
Hy5	transkripční faktor pozitivně regulující fotomorfogenetickou odpověď
KRP	inhibitory buněčného cyklu (Kip related proteins)
NAA	kyselina α -naftyloctová
Phy	fytochrom
R	krátkovlnné červené světlo (kolem 660 nm)
RR	konečné regulátory (response regulators)
SnRK1	kináza blízká kvasinkové SNF1
STS	thiosulfát stříbrný
TPP	trehalózafosfátfosfatáza
TPS	trehalózafosfátsyntáza
UDP-glukóza	uridindifosfát glukóza

Poznámka: Způsob značení genů a proteinů v literatuře není jednotný. Upřesním tedy typ nomenklatury použitý v této práci.

Zkratky genů a dalších elementů na úrovni nukleových kyselin jsou na rozdíl od proteinů uváděny kurzívou. První písmeno je při tom vždy velké (např. CKX, CycD2;1). Malé první písmeno označuje mutantu s poškozenou funkcí daného genu (např. ahk2). Ostatní aspekty nomenklatury jsou uváděny podle autorů.

Názvy organismů uvádím tak, jak je uvádějí citovaní autoři. Někde tedy chybí druhový název.

1. Úvod

Rostliny se jako přisedlé organismy neschopné významnějšího aktivního pohybu prostorem musejí umět vyrovnávat s řadou vnějších vlivů a účinně na ně reagovat. Vyvinuly rozsáhlou signalizační síť regulující jejich buněčné pochody a koordinující děje v jednotlivých částech rostlinného těla. K nejvýznamnějším signálním molekulám patří fytohormony, ale poslední dobou je zřejmý také významný vliv cukrů a některých dalších metabolitů jako například dusíkatých látek. Z této rozsáhlé sítě se v této práci pokusím vyzdvihnout vztahy mezi signalizací cukrů a cytokininů, kteréžto se ukazují jako klíčové v regulaci řady procesů. Pro obsáhlost veškerých interakcí je toto omezení nutné, protože pojetí interakcí všech signálních molekul by značně přesáhlo rámec této práce. Zvolené téma jsem se ale snažil zpracovat vyčerpávajícím způsobem, a tak je možné, že některé kapitoly věnované stejně významným tématům budou podle dostupných informací o daném problému různě podrobné.

V následujících dvou kapitolách nejprve uvedu některé informace o cukrech a cytokinech, potřebné pro další text zabývající se již jejich konkrétními účinky a vlastními interakcemi. Nejedná se přitom o kompletní shrnutí veškerých informací o těchto látkách, ale spíše jen uvedení některých zásadních či naopak nových informací potřebných pro pochopení vlastních interakcí.

1.1. Cytokininy

Cytokininy jsou spolu s auxiny uváděny jako hlavní růstové regulátory rostlin. Byly objeveny jako první z fytohormonů podle svého stimulačního účinku na dělení buněk. Vzhledem k zásadnímu významu buněčného dělení pro většinu pochodů v rostlinném organismu se k nim záhy obrátila pozornost řady badatelů a tento zájem trvá v podstatě dodnes. Díky tomu o nich bylo nashromážděno značné množství poznatků, nejprve spíše empirických pozorování, posléze i konkrétnějších poznatků o jejich syntéze a degradaci i účinků na jednotlivé buněčné pochody a expresi různých genů. V rostlinách jsou syntetizovány převážně v podzemních částech a transportovány xylémem do nadzemních částí (Procházka et al., 1998). Pro další text je však myslím podstatné připomenout především významný vliv degradačních pochodů na řízení jejich endogenních hladin. Jejich hladiny totiž v rostlinách reguluje kromě syntézy a transportu také degradace cytokininoxidázou (CKX) a O/N glykosylací za vzniku neaktivních (nebo v případě O glykosylace také aktivních)

konjugátů (Procházka et al., 1998). Za hlavní účinek cytokininů se považuje stimulace buněčného dělení a oddálení senescence. V supraoptimálních koncentracích však buněčné dělení naopak inhibují. Kromě toho cytokininy v rostlinách ovlivňují řadu dějů, jak bylo ukázáno například u příjmu dusíku (Takei et al., 2001; Takei et al., 2002), fosfátu (Franco-Zorrilla et al., 2002), sulfátu (Maruyama-Nakashita et al., 2004) a odpovědi na červené světlo (Sweere et al., 2001; To et al., 2004). V souladu s pozorovaným účinkem na buněčné dělení se cytokininy ukázaly nezbytné také pro správnou funkci meristémů. Trojitý mutant *ahk2 ahk3 ahk4* s nefunkčními receptory cytokininů vytváří méně menších listů jako důsledek méně častého zakládání listových primordií a menšího počtu buněk v nich (Higuchi et al., 2004; Nishimura et al., 2004). Kořeny jsou u tohoto mutantu také výrazně redukovány, a to jak jejich růst do délky, tak zakládání postranních kořenů. Zakládání adventivních kořenů na styku hypokotylu a hlavního kořene však bylo posíleno (Nishimura et al., 2004). Buňky kořenového meristému se předčasně přestávají dělit což vede k tenčím kořenům s redukovánými vodivými pletivy. Toto pozorování by mohlo vést k závěru, že cytokininy mají na růst kořenů stimulační účinek což je v rozporu s obecně uznávaným modelem, kdy jejich supraoptimální koncentrace v kořenech působí inhibičně. Lze to však vysvětlit právě různou odezvou na různé koncentrace cytokininů. Optimální koncentrace cytokininů pro růst je pak nižší, než skutečná koncentrace přítomná v kořenech. Zatímco fyziologické koncentrace jsou tedy příliš vysoké a růst inhibují, poškození receptorů vede u zmíněného mutantu ke snížení cytokininového signálu na nižší úroveň, a růst je tak inhibován také. Tento mutant navíc jen zřídka vykvétá a pokud k tomu dojde, květů je malý počet a jsou sterilní (Higuchi et al., 2004; Nishimura et al., 2004). Nadexprese *CKX* vede také ke snížené fertilitě (Werner et al., 2003). V apikálním meristému *Arabidopsis* vzrůstají endogenní hladiny cytokininů po jeho přechodu v květní (Corbesier et al., 2003). Zřejmě tedy v květním meristému zastávají významnou úlohu.

Poslední dobou byly identifikovány také receptory a zásadní proteiny následujícího přenosu signálu. Cytokininové receptory jsou membránové histidinové kinázy (HK). Není však vyloučena možnost existence ještě nějakého dalšího, dosud neobjeveného receptoru (Ferreira a Kieber, 2005). Následující přenos signálu je pak zajištěn dvoukomponentní signální drahou, kdy receptorové kinázy předávají signál na fosfotransferové proteiny (histidine phosphotransfer protein – HP) a tyto následně fosforylují konečné regulátory (response regulator – RR), které pak ovlivňují expresi příslušných genů. Nejčastější modelový druh – *Arabidopsis thaliana* má tři HK (*Arabidopsis* HK - AHK2, AHK3, AHK4/cytokinin response 1/woodenleg – AHK4/CRE1/WOL), pět HP (*Arabidopsis* HP – AHP1 až AHP5)

a 23 RR (*Arabidopsis* RR – ARR). Všechny tři HK jsou funkčně navzájem alespoň částečně zastupitelné, i když se zřejmě AHK4 uplatňuje především v kořenech, zatímco AHK2 a AHK3 v prýtech (Higuchi et al., 2004; Nishimura et al., 2004). ARR se dělí do dvou skupin, ARR typu A (A-ARR) a ARR typu B (B-ARR) (D'Agostino et al., 2000; Mason et al., 2004). A-ARR jsou patrně negativní regulátory cytokininové odpovědi (Hwang a Sheen, 2001; Kiba et al., 2003; To et al., 2004), zatímco B-ARR pozitivní (Hwang a Sheen, 2001; Sakai et al., 2001). B-ARR zřejmě přímo interagují s promotory genů primární odpovědi na cytokininy (Rashotte et al., 2003).

1.2. Sacharidy

Existence cukrů je známa výrazně déle, než cytokininů. Byly však dlouho považovány za molekuly sloužící především jako zdroj energie a organicky vázaného uhlíku pro metabolismus. Jejich následně objevený vliv na expresi určitých genů byl vysvětlován vyšším přísunem energie a produkcí metabolitů vzniklých jejich zpracováním. Možná existence signálu vycházejícího z těchto „obvyklých“ látek se zdála nepravděpodobná. Přijetí myšlenky, že sacharidy slouží kromě zdroje energie a materiálu také jako zdroje signálu je otázkou nedávné doby a dodnes v názorech na jejich senzory (či receptory) panuje nejistota. O následném přenosu signálu pak máme jen velmi málo informací. Pokusy s nemetabolizovatelnými a částečně metabolizovatelnými sacharidy nejprve odhalily, že k ovlivnění exprese řady genů dochází i bez produkce energie a příslušných metabolitů a dotyčný signál musí vycházet z prvotních reakcí jejich zpracování nebo pouze monitorování jejich hladiny (Jang a Sheen, 1994).

Hlavním transportním sacharidem většiny rostlin je sacharóza. Do buněk vstupuje pomocí sacharózového přenašeče. Může však být také vně buňky rozštěpena extracelulární invertázou a buňka pak přijímá glukózu a fruktózu pomocí hexózového přenašeče. To je podstatné především pro meristematické buňky, které preferují příjem jednotlivých hexóz, zatímco diferencované buňky přijímají více sacharózu (Sherson et al., 2003). Uvnitř buňky je sacharóza štěpena buď invertázou nebo sacharózasyntázou. Invertáza vytváří glukózu a fruktózu, zatímco sacharózasyntáza UDP-glukózu a fruktózu. Glukóza i fruktóza jsou následně fosforylovány hexokinázami a glukóza-6-fosfát je převeden na fruktosu-6-fosfát fosfoglukózaizomerázou. Dále již pokračují klasické reakce glykolýzy.

Signál o přítomnosti a množství některých cukrů vzniká patrně právě v některých výše uvedených prvotních reakcích jejich zpracování. Dosud byl jako zdroj signálu spolehlivě

identifikován jediný enzym, a to hexokináza (Rolland a Sheen, 2005; Smeekens, 2000; Xiao et al., 2000). Pokusy s nemetabolizovatelnými analogy cukrů však odhalily existenci ještě dalšího, na hexokinázách nezávislého, zdroje signálu. Podobně jako u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* by tuto funkci mohl plnit netransportující membránový receptor hexóz, ale v úvahu připadá také hexózový přenašeč plazmatické membrány (Halford et al., 1999; Sherson et al., 2003; Smeekens, 2000). Zřejmě je však monitorována také samotná sacharóza, protože při jejím nahrazení glukózou a fruktózou nedochází k indukci stejných genů. Některé sacharózou indukovatelné geny nejsou v přítomnosti samotných hexóz exprimovány (Smeekens, 2000).

Do úvah o možné signalizaci sacharidů významně zasáhlo objevení významu metabolismu trehalózy. Trehalóza může vznikat různými způsoby, v rostlinách patrně výhradně syntézou z UDP-glukózy a glukóza-6-fosfátu enzymem trehalózafosfátsyntázou (TPS) za vzniku trehalóza-6-fosfátu. Ten je následně defosforylován trehalózafosfátfosfatázou (TPP) a vzniká trehalóza (Avonce et al., 2006). Trehalóza je poté štěpena trehalázou za vzniku glukózy. V rostlinách je obvykle přítomna ve velice nízkých koncentracích a byla považována za jakýsi artefakt z dávných dob, kdy ještě sacharóza nebyla hlavním transportním cukrem (Paul, 2007). Následovalo však zjištění, že zřejmě plní také signalizační úlohu (Goddijn et al., 1997; Pellny et al., 2004; Schluepmann et al., 2003) a její úplná absence může být letální (Eastmond et al., 2002). Hlavní signál přitom u rostlin zřejmě vychází, obdobně jako u většiny jiných eukaryot, z trehalóza-6-fosfátu (Pellny et al., 2004; Schluepmann et al., 2003) a to buď z jeho endogenní hladiny nebo přímo z některého enzymu zahrnutého v jeho metabolismu, nejspíše trehalózafosfátsyntázy. Uplatňuje se například v regulaci fotosyntézy (Pellny et al., 2004), ovlivňuje expresi SnRK1 (Schluepmann et al., 2004) i některých genů signalizace ABA (Avonce et al., 2004; Ramon et al., 2007). Zřejmě se také uplatňuje v přenosu signálu pro syntézu škrobu v chloroplastech dle obsahu cukrů v cytoplazmě (Kolbe et al., 2005; Paul, 2007; Schluepmann et al., 2004). Metabolismus trehalózy je také v úzkém vztahu s metabolismem glukózy a možná i některých dalších cukrů (Avonce et al., 2005; Eastmond et al., 2003).

Studium účinků signálu sacharidů se zaměřilo především na sledování jeho vlivu na genovou expresi. U *Arabidopsis* jsou dnes známy stovky genů jejichž expresi ovlivňuje sacharóza (např. Gonzali et al., 2006) uplatňujících se v různých dějích jako je například fotosyntéza, metabolismus lipidů, dusíku či buněčný cyklus (Richard et al., 2002; Rolland et al., 2002). U mnohých z nich však zůstává otázkou, zda je to důsledkem vlastní signalizace sacharózy, nebo až jejích metabolických produktů či přísunu energie, jak bylo předpokládáno

dříve. Odlišit tyto procesy je v mnoha případech stále obtížné. Cukry zpravidla růstové procesy stimulují, ale mohou také inhibovat. Glukóza obecně inhibuje klíčení semen (shrnutí v Gibson, 2005), ale po klíčení může růst kořenů i nadzemních částí stimulovat (Yuan et Wysocka-Diller, 2006). Podstatná se jeví koncentrace aplikovaného cukru a rozhodující při tom zřejmě bude její poměr s endogenními hladinami růstových regulátorů, především ABA (Gibson, 2005).

2. Vliv sacharidů a cytokininů na konkrétní pochody v rostlinách

Sacharidy spolu s cytokininy patrně ovlivňují řadu rostlinných procesů. O většině z nich však dosud nemáme dostatek informací, aby bylo možné uvažovat jejich společné působení. Dále se tedy zaměřím na dva důležité procesy, o jejichž ovlivnění oběma signálními látkami již existují konkrétnější informace: buněčný cyklus a fotomorfogenezi. Zejména u fotomorfogeneze je však informací o vlastních interakcích sacharidů a cytokininů poměrně málo a považuji tedy za nutné tyto informace zařadit do širšího kontextu známých vlivů samotných cytokininů a sacharidů. U obou dějů tedy nejprve uvedu vliv těchto molekul a až poté vlastní interakce. Předem ještě zmíním ovlivnění metabolismu a signalizace trehalózy cytokininy, které je vzhledem k jejímu významu jako signální molekuly důležité pro možné ovlivnění řady dalších dějů.

2.1. Ovlivnění metabolismu a signalizace trehalózy cytokininy

Již byl zmíněn význam trehalózy a sní spojených látek v signalizaci. Samotný metabolismus trehalózy je ale zřejmě pod kontrolou cytokininů (Brenner et al., 2005). Exprese řady genů rodiny *TPS* byla zvýšena aplikací exogenních cytokininů a naopak snížena u cytokinin deficientních rostlin. Exprese jedné *TPP* byla aplikací cytokininů naopak snížena. Exprese trehalázy byla zvýšena. Zvýšení koncentrace cytokininů by tedy mělo vést ke zvýšení obsahu trehalóza-6-fosfátu a snížení hladiny samotné trehalózy (Brenner et al., 2005).

Je to zajímavé v kontextu pozorovaného vlivu trehalózy-6-fosfátu a cytokininů na růst. Rostliny se sníženým obsahem trehalózy-6-fosfátu rostou po dodání cukrů pomaleji a akumulují intermediáty respirace, zatímco rostliny s jeho zvýšeným obsahem se chovají naopak (Schluepmann et al., 2003). Jak již bylo zmíněno, cytokininy také urychlují růst prýtu

(Kamínek, 2002) a rostliny s jejich nedostatkem rostou naopak pomaleji (Werner et al., 2003). Účinek cytokininů na urychlení růstu by tedy mohl být alespoň částečně zprostředkován zvýšením hladiny trehalóza-6-fosfátu. Byla však pozorována také inhibice růstu způsobená akumulací trehalózy-6-fosfátu u rostlin pěstovaných *in vitro* na médiu s trehalózou (Schluepmann et al., 2004). Mohlo by se jednat o supraoptimální koncentraci vedoucí narozdíl od fyziologických koncentrací k inhibici růstu, nebo je její účinek závislý na dalších vlivech, nejspíše ostatních signálech cukerného metabolismu.

2.2. Buněčný cyklus

Neukončený růst rostlin, ale i potřeba opravovat poškozené části, jsou závislé na dělení buněk. Buňky, které se rozdělily, následně procházejí změnami vedoucími k jejich opětovnému rozdělení. Intenzivně se dělicí buňky pak tyto změny cyklicky opakují, odtud tedy pojmenování buněčný cyklus. Pro rostlinu je zcela klíčové správně organizovat, které buňky a kdy se budou dělit, a veškeré buněčné pochody musí být sladěny s probíhající fází buněčného cyklu (Procházka et al., 1998). Vliv sacharidů i cytokininů na tento děj byl tedy předmětem zájmu řady vědeckých prací.

2.2.1. Vztah cytokininů a regulace buněčného cyklu

Již bylo zmíněno, že cytokininy ve fyziologických koncentracích stimulují buněčné dělení a zřejmě je to jejich hlavní účinek. Koncentrace těchto látek v mitoticky intenzivně se dělicích částech (například meristémech) je výrazně vyšší než v ostatních částech rostlin. Z nároků buněčných kultur *in vitro* je však zřejmý rozdílný požadavek různých částí rostlin na dodávání exogenních cytokininů. Zatímco kultury odvozené z nadzemních částí pro své dělení zpravidla vyžadují dodávání cytokininů, kultury odvozené z kořenů jsou stimulovány spíše auxiny a endogenně syntetizované cytokininy jim zřejmě postačují (Wang et al., 1981). Tuto hypotézu podporuje také zjištění Wenera a spolupracovníků (2003), kdy transgenní rostliny *Arabidopsis* s posílenou degradací cytokininů měly potlačenu aktivitu meristémů prýtu, ale naopak posílený růst meristémů kořenových. V nadzemních částech zřejmě poklesla endogenní hladina cytokininů pod normální hodnoty stimulující růst, a způsobila tedy jeho zpomalení. Naproti tomu v kořenech jejich endogenní hladina patrně poklesla pod normální supraoptimální hodnoty inhibující dělení, a růst tak umožnila. Shoduje se to také s výsledky sledování exprese cyklinu *CycA2;1*, jež byla v kořenech *Arabidopsis thaliana* stimulována auxiny, v apexu naopak cytokininy (Bursens et al., 2000). Je však také

řada kultur, které se nechovají podle uvedeného schématu. Lze to vysvětlit ztrátou jejich paměťové informace o vlastním původu a změnou v chování odpovídající buňkám bez určené pozice v rostlině (viz. Costa a Shaw, 2006). Není pro to však dosud dostatek důkazů.

V rámci určitého pletiva však endogenní hladiny některých cytokininů také nejsou stabilní a vykazují v čase periodické výkyvy. Bylo to pozorováno ve vztahu k buněčnému cyklu a denní fotoperiodě. Během buněčného cyklu byl pozorován výrazný vzestup koncem S a během M fáze (Nishinari a Syono, 1986; Redig et al., 1996). Naproti tomu Hartig a Beck (2005a) zjistili čtyři maxima, na konci G1 a při přechodu S/G2, G2/M a M/G1. Během každé fáze buněčného cyklu docházelo k poklesu jejich hladin na výrazně nižší hodnoty. Akumulaci endogenních cytokininů na konci G1 fáze pozorovali také Laureys a spolupracovníci (1999). Zřejmě tedy existují čtyři maxima a v dřívějších pracích se některá z nich nepodařilo detegovat.

O významu poklesu koncentrace cytokininů na vstupu do S fáze svědčí zajímavé pozorování, kdy se buňky po aplikaci inhibitoru biosyntézy cytokininů lovastatinu proti očekávání nezastavily v G1, ale až v S fázi. K očekávanému poklesu endogenních cytokininů přitom skutečně došlo (Laureys et al., 1999). Pokud byl však k těmto buňkám přidán během G1 fáze exogenní zeatin, zabránil proti očekávání přechodu do S fáze. Autoři navrhli vysvětlení, že pro vlastní přechod G1/S je potřebné právě snížení endogenní hladiny cytokininů. Buňky neschopné zvýšení této hladiny tak nemohly přejít až do G2 fáze, zatímco buňky s přebytkem zeatinu nemohly dostatečně snížit tuto hladinu na správnou úroveň pro přechod G1/S (Laureys et al., 1999). Prodloužení buněčného cyklu po ošetření cytokininu pozorovali také Hartig a Beck (2005a) a vysvětlují ho zpomalením výše uvedených fluktuací endogenních cytokininů. Práce jiných autorů ale naopak potvrzují předpoklad stimulačního účinku cytokininů na přechodu G1/S (Cooke a Meyer, 1981; Nagata et al., 1994; Richard et al., 2002; Riou-Khamlichi et al., 1999; Riou-Khamlichi et al., 2000). Zřejmě je tedy vliv cytokininů na buněčný cyklus závislý ještě na dalších faktorech a nemusí být vždy jednoznačně pozitivní či negativní.

Obsah endogenních cytokininů v listech rostlin tabáku pěstovaných při fotoperiodě 16/8 (světlo/tma) kolísal také během dne. Vykazoval dvě maxima, výraznější po 9 hodinách světla (tedy 1 hodinu po polovině světelné periody) a méně výrazné po 3 hodinách tmy. Kromě těchto dvou vzestupů byla hladina cytokininů na nižších hodnotách (Nováková et al., 2005). Obsah cytokininů v rostlinách tedy není zdaleka stabilní.

Významný vliv cytokininů na buněčný cyklus se odráží také v regulaci exprese řady genů řídících jeho chod. Ovlivňují například expresi cyklin-dependentní kinázy CDKA

a *CycD3;1*. U suspenzních buněčných kultur merlíku *Chenopodium rubrum* zvyšovaly stimulační účinek auxinu na expresi *CDKA*, samotné však žádný účinek nevykazovaly (Fountain et al., 2003). Hemerly se spolupracovníky (1993) uvádí, že schopnost indukce cytokininů je závislá na typu pletiva. Dále ovlivňují také *CycD4;1*, *CycB1;1*, *CycD3;2*, *CycA3;2*, *CycD2;1* (Hartig, 2005; Richard et al., 2002), jak bude podrobněji zmíněno v kapitole o interakcích sacharidů a cytokininů v regulaci buněčného cyklu. Na další vztah mezi cytokininů a buněčným cyklem poukazuje pozorování kdy požadavek na dodání cytokininů pro tvorbu kalusu byl u tabáku nahrazen expresí CDK aktivační kinázy (CAK) R2 z rýže (Yamaguchi et al., 2003). Úzký vztah k buněčnému cyklu podporuje také zjištění, že některé analogy cytokininů, jako například olomoucín či bohemín, blokují CDK kompetitivní inhibicí vazebného místa pro ATP (Kovářová et al., 2000; Planchais et al., 1997; Schultze-Galmen et al., 1995; Veselý et al., 1994). Nově bylo navíc zjištěno, že klasické anticytokininů nepůsobí jako inhibitory AHK, jak bylo předpokládáno, ale také blokují přímo CDK navázáním do vazebného místa pro ATP. Vedou k zablokování buněčného cyklu, chaotizaci mikrotubulárního cytoskeletu a apoptóze (Spíchal et al., 2007).

Aplikace exogenních cytokininů vede k posttranslační aktivaci *CDK* defosforylací tyrosinu a umožní tak vstup buněk do mitózy (Zhang et al., 1996; Zhang et al., 2005). Kromě toho stimulují také vstup do S fáze indukci exprese *CycD3;1* (Richard et al., 2002; Riou-Khamlichi et al., 1999; Riou-Khamlichi et al., 2000). Některé kultury se přitom zastaví při nedostatku cytokininů u S fáze, jiné v G2/M. Zřejmě je tu jakási predispozice pletiva kdy je vyžadována exogenní stimulace cytokininů. John a Zhang (2001) se domnívají, že bude záviset na množství *CycD* nebo nějakých aktivátorů *CDK/Cyc*.

Vlivem cytokininů na *CycD3* na přechodu G1/S se blíže zabývali Riou-Khamlichi se spolupracovníky (1999). Zjistili zvýšenou hladinu *CycD3* v mutantní *Arabidopsis* se zvýšenou hladinou cytokininů a ukázali možnost náhrady stimulačního účinku cytokininů na buněčný cyklus nadprodukcí *CycD3*. Zdá se tedy, že stimulační vliv cytokininů na přechod G1/S je zprostředkován zvýšením aktivity *CycD3*. Z uvedených výsledků a prací jiných autorů, jež ukazují na zastavení buněk deficientních na cytokininů před vstupem do S fáze buněčného cyklu (Cooke a Meyer, 1981; Nagata et al., 1994), vyvozují, že cytokininů stimulují buněčné dělení prostřednictvím *CycD3* na přechodu G1 a S fáze buněčného cyklu. Pro jejich účinek je však nutná přítomnost sacharózy, která i samotná indukuje expresi *CycD3*, ale ve spojení s cytokininů má synergický účinek (Riou-Khamlichi et al., 2000).

Jiní autoři se zabývali vlivem cytokininů na přechodu G2/M. Pro vstup do M fáze se cytokininů jeví nezbytné (Mader a Hanke, 1996; Orchard et al., 2005; Redig et al., 1996;

Zhang et al., 1996). Na možný mechanismus ukazují Zhang a spolupracovníci (2005) kdy buněčné suspenze *Nicotiana plumbaginifolia* po odebrání cytokininů zastavily své dělení na přechodu G2/M. V této fázi obsahovaly inaktivní CDK vlivem fosforylace specifických míst. Exprese *Cdc25* ze *Schizosaccharomyces pombe* pak nahradila požadavek cytokininů a umožnila normální vstup do mitózy. Cytokininy by tedy měly být na přechodu G2/M nepřímo zodpovědné za aktivační defosforylaci CDK (Zhang et al., 1996; Zhang et al., 2005).

Situace s aktivační defosforylací CDK je ale u rostlin poměrně složitá. Výše uvedené výsledky Zhanga a spolupracovníků (2005) naznačují, že u rostlin dochází k této defosforylaci stejně jako u ostatních zkoumaných eukaryot prostřednictvím fosfatázy analogické k *Cdc25*.

Tuto hypotézu podporují také zjištění jiných autorů. Již bylo zmíněno, že exprese kvasinkové *Cdc25* v rostlinných buňkách může nahradit požadavek na exogenní cytokininy pro přechod G2/M, platí to však zřejmě i pro jejich endogenní hladiny. Buněčné suspenze BY-2 tabáku se po zablokování biosyntézy cytokininů lovastatinem zastavily v přechodu G2/M, zatímco transformanty s konstitutivní expresí kvasinkové *Cdc25* se dělily dále (Orchard et al., 2005). Transformanty mají za srovnatelných podmínek menší, rychleji se dělící buňky (McKibbin et al., 1998; Wyrzykowska et al., 2002) a je u nich ovlivněna také morfogeneze. Při organogenezi *de novo* tvořily stonkové segmenty *in vitro* nové prýty, na rozdíl od kontroly, i na médiu bez cytokininů a na kompletním médiu s vysokým obsahem BAP podporujícím tvorbu prýtů jich tvořily více. Na médiu s vysokým obsahem NAA podporujícím tvorbu kořenů transformanty kořeny nevytvářely a pouze sporadicky vytvářely prýty. Opět je tu tedy jakoby posunutá rovnováha fytohormonů ve prospěch cytokininů (Suchomelová et al., 2004). U kořenových kultur tabáku zakládaly transformované rostliny častěji primordia postranních kořenů s menšími, rychleji se dělícími buňkami (McKibbin et al., 1998), což opět odpovídá představě urychlení buněčného cyklu aktivační defosforylací CDK.

Problémy však začínají při snaze o identifikaci tohoto enzymu. Úplné osekvenování genomu některých rostlin (především huseníčku *Arabidopsis thaliana* a rýže *Oryza sativa*) přineslo možnost vyhledání orthologů živočišné *Cdc25* a jí antagonistické kinázy *Wee1*. Orthology *Wee1* byly v rostlinách skutečně nalezeny (Gonzalez et al., 2005; Sorrell et al., 2002; Sun et al., 1999) a u jednobuněčné řasy *Ostreococcus tauri* našel Khadaroo se spolupracovníky (2004) ortholog *Cdc25*, který je zřejmě plně funkční. U cévnatých rostlin však žádný protein se sekvencí podobnou *Cdc25* nalezen nebyl (Vandepoele et al., 2002). Podařilo se nalézt pouze enzym odpovídající svou strukturou C-koncové katalytické doméně

lidské Cdc25 bez její klasické N-koncové regulační domény (Landrieu et al., 2004a,b), označovaný zpravidla jako *Cdc25-like* (*Arath*; *Cdc25*, *AtCdc25*) a jeho homology se následně podařilo nalézt i u dalších rostlin. Na jeho funkci ale panují značně rozdílné názory. V zásadě je však lze rozdělit do dvou skupin: Cdc25-like coby funkční analog Cdc25 nebo jako arsenátoreduktáza bez významnějšího vlivu na buněčný cyklus. Protože ale na základě současných znalostí není možné tento spor jednoznačně vyřešit, uvedu v následujícím textu nejprve argumenty pro první variantu a poté pro tu druhou.

2.2.1.1. Cdc25-like jako fosfatáza

Rostlinné Cdc25-like jsou v podstatě Cdc25 ostatních eukaryot bez regulační domény. Vlastní katalytická doména však zachována je, a patrně by tedy mohla plnit svou obvyklou funkci (Landrieu et al., 2004a,b). V experimentech *in vitro* vykazuje AtCdc25 fosfatázovou aktivitu (Ellis et al., 2006; Landrieu et al., 2004a), stimuluje kinázovou aktivitu CDK z *Arabidopsis thaliana* a váže se s modelovými fosforylovanými peptidy CDKA₁ (Landrieu et al., 2004a). Mutanti kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* exprimující AtCdc25 mají kratší buňky vstupující do mitózy, zřejmě tu tedy AtCdc25 urychluje vstup do M fáze (Sorrell et al., 2005).

I když je tato hypotéza dosti uznávaná, existují pro ní dále většinou nepřímé důkazy dokládající spíše existenci regulace CDK aktivační defosforylací, než vlastní účinek Cdc25-like v této reakci. Je to například vyšší aktivita CDKB1 u buněčných suspenzí BY-2 tabáku transformovaných genem *Cdc25* ze *Schizosaccharomyces pombe* než u kontroly (Orchard et al., 2005), či již zmíněná existence Wee1 kinázy u rostlin (Gonzalez et al., 2005; Sorrell et al., 2002; Sun et al., 1999), inaktivace CDK fosforylací specifických míst (Zhang et al., 2005), nebo transformanty rostlin kvasinkovou Cdc25, jež vykazují urychlený vstup do mitózy (např.: McKibbin et al., 1998; Orchard et al., 2005; Zhang et al., 2005). Protože ale cévnaté rostliny nemají vlastní ortholog Cdc25, lze usoudit pouze na existenci aktivační defosforylace, kterou v uvedených experimentech zastoupila kvasinková Cdc25. Který enzym tuto reakci katalyzuje v rostlině z těchto experimentů ale nevyplývá.

2.2.1.2. Cdc25-like jako arsenátoreduktáza

V přírodě je nejčastější formou volného anorganického arsenu arsenát (As^{IV}). Svou chemickou strukturou je poměrně blízký fosfátu a rostliny ho přijímají do svých kořenů právě pomocí vysokoafinních přenašečů fosfátu (Asher a Reay, 1979). Již v kořenech pak dochází

k jeho redukci na arsenit který je následně vyvázan do komplexů s nízkomolekulárními kovy-vážícími proteiny (glutathion, fytochelatin) a takto patrně transportován do apoplastu či vakuoly, aby se zabránilo jeho transportu do nadzemních částí (Bleeker et al., 2006; Rosen, 2002). Kromě pomalé neenzymatické redukce arsenátu v buňkách probíhá také enzymatická redukce katalyzovaná arsenátoreduktázami. Jsou dobře známy z kvasinek (Acr2) (Bobrowicz et al., 1997) i bakterií (Ji et al., 1994) a byly nalezeny i u rostlin (Bleeker et al., 2006; Dhankher et al., 2006; Ellis et al., 2006). Jedná se o proteiny podobné svou sekvencí kvasinkové Acr2 a posléze bylo zjištěno, že enzym popsán jako arsenátoreduktáza *Arabidopsis thaliana* (AtACR2) je identický s AtCdc25 (NP_568119) a celá tato rodina arsenátoreduktáz je homologní s rostlinnými Cdc25-like kinázami (Dhankher et al., 2006; Ellis et al., 2006). Funkcí některých těchto enzymů se blíže zabývá Ellis se spolupracovníky (2006), konkrétně arsenátoreduktázami z *Arabidopsis thaliana* (AtCdc25), *Pteris vittata* (PvAcr2) a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (ScAcr2). Všechny tři vykazovaly *in vitro* arsenátoreduktázovou aktivitu, nejméně AtCdc25, nejvíce ScAcr2. Významnou fosfatázovou aktivitu však měla pouze AtCdc25, ostatní jen naprosto minimální. Konkrétní funkce AtCdc25 *in vivo* tak zůstává nejasná. Další pokusy byly prováděny s mutantními rostlinami. Mutageneze sekvence AtCdc25 vedla k úplné ztrátě arsenátoreduktázové aktivity (Duan et al., 2005) nebo jen oslabení této aktivity (Bleeker et al., 2006). Nadexprese AtCdc25 vedla při nižších koncentracích arsenátu naopak ke zvýšení tolerance, při vysokých až k hypersenzitivní reakci (Bleeker et al., 2006). AtCdc25 je navíc schopen komplementace mutantní *Escherichia coli* defektní v arsenátoreduktázové aktivitě (Dhankher et al., 2006). Mutanti zároveň údajně nevykazují žádný výrazný morfologický fenotyp (Bleeker et al., 2006; Dhankher et al., 2006), nemají tedy zřejmě ovlivněn buněčný cyklus. Exprese AtCdc25 je navíc ve všech částech rostliny na stejné úrovni bez ohledu na to, jak moc se dané pletivo dělí (Sorrell et al., 2005), což s uvedenými poznatky podporuje představu AtCdc25 jako arsenátoreduktázy bez esenciální funkce v regulaci buněčného cyklu (Boudolf et al., 2006).

Aktivační defosforylaci CDK by pak měl zastávat nějaký jiný enzym. Rozhodující vliv při vstupu do mitózy přičítají Boudolf se spolupracovníky (2006) CDKB1;1 na základě jejich četných analogií s Cdc25 octomilky *Drosophila melanogaster*. Oba proteiny mají maximum endogenní hladiny mRNA na přechodu G2/M (Sorrell et al., 2001), jejich exprese je regulována E2F transkripčními faktory (Boudolf et al., 2004; Neufeld et al., 1998), jsou přednostně exprimovány v mitoticky intenzivně se dělících tkáních a inhibují přechod dělících se buněk do endocyklu (jejich represe vede u dělících se buněk ke vstupu do endocyklu) (Boudolf et al., 2004; Shcherbata et al., 2004; Verkest et al., 2005). CDKB1;1

by pak spouštěla dráhu vedoucí k obdobným změnám, jaké působí u octomilky Cdc25 (Boudolf et al., 2006).

Autoři poukazují na možnou evoluci tohoto uspořádání, kdy primitivní řasa *Ostreococcus tauri* obsahuje kromě CDKA a Cdc25 také kinázu blízkou skupině CdkB (CdkB-like). Dle sekvence je jakýmsi přechodem mezi rostlinnými *CdkA* a *CdkB* (Robbens et al., 2005; Corellou et al. 2005). Její endogenní hladina je regulována buněčným cyklem a může komplementovat *cdc28* (*cdc2*) mutantu kvasinky (Corellou et al., 2005; Farinas et al., 2006). Naproti tomu řasa *Chlamydomonas reinhardtii* již nemá kompletní ortholog *Cdc25*, zato kromě *CdkA* vlastní také skutečnou *CdkB* blízkou *CdkB2;1 Arabidopsis thaliana* (Bisova et al., 2005). CdkB-like *Ostreococcus tauri* ještě patně není schopná plnit funkce CdkB a musí tedy ještě být zachována funkční Cdc25. CdkB *Chlamydomonas reinhardtii* již zřejmě kompletně převzala funkci Cdc25, která jako nepotřebná zanikla (Boudolf et al., 2006). Dosud však pro tuto hypotézu není dostatek důkazů a některá pozorování uvedená v předchozí kapitole jsou s ní dokonce v rozporu. Nelze ji tedy zatím obecně přijmout.

2.2.2. Vztah sacharidů a regulace buněčného cyklu

Cukry se kromě řady jiných procesů významně uplatňují také v regulaci buněčného cyklu. Pro buněčné dělení jsou zřejmě nepostradatelné (Wobus a Weber, 1999), ale mohou být využity i zásoby, jak bylo ukázáno na BY-2 buňkách tabáku, které, pokud mají dostatek nahromaděných sacharidů, se mohou rozdělit i bez jejich exogenního zdroje (Hartig, 2005). Jedná se však spíše o plynulé ovlivnění intenzity dělení než striktní rozhodnutí zda „se dělit“ a hlavní vliv mají zřejmě právě endogenní sacharidy. Frekvence dělení BY-2 buněk tabáku odpovídá endogenním hladinám glukózy a fruktózy, ne však intenzitě příjmu těchto látek (Hartig a Beck, 2006; Sheen et al., 1999). Případný signál by tedy měl vycházet až z nějaké vnitrobuněčné metabolické reakce, například fosforylace hexokinázou (Sheen et al., 1999).

Významným enzymem regulujícím metabolismus uhlíku je také kináza SnRK1 (SNF1-related protein kinase-1). Metabolismus cukrů ovlivňuje různými mechanismy. Například se podílí na inaktivační fosforylaci sacharózafosfátsyntázy a ADP-glukózapyrofosforylázy (Halford et al., 2006; Sugden et al., 1999), stimuluje expresi genů pro sacharózasyntázu, α -amylázu, sacharózafosfátsyntázu, ADP-glukózapyrofosforylázu (Laurie et al., 2003; Purcell et al., 1998) a má vliv na regulaci buněčného cyklu (Dickinson et al., 1999; Halford, 2006; Pien et al., 2001). Samotná SnRK1 je však také zpětně ovlivňována sacharidy, zřejmě prostřednictvím glukóza-6-fosfátu, který ji v podmínkách

in vitro inhibuje (Toroser et al., 2000) a patrně i dalšími, dosud neobjasněnými mechanismy (Halford, 2006). Více se tu však touto kinázou zabývat nebudeme, protože je to příliš obsáhlá problematika tvořící samostatný celek a rozsah této práce jí nedovoluje řešit v odpovídající míře. Zájemce bych odkázal na paralelně připravovanou bakalářskou práci „Mechanismy vnímání hladin sacharidů a sacharidová signalizace u rostlin“ (Ševčíková, 2007).

Endogenní hladiny různých cukrů v rostlinách nejsou zcela neměnné, ale během dne vykonávají v závislosti na vnějších podmínkách určité periodické změny. Přes den je hlavním dějem určujícím jejich dostupnost fotosyntéza, zatímco v noci tuto úlohu přebírá rozklad transientního škrobu (Geiger a Servaites, 1994). Je známo, že denní změny v koncentracích řady metabolitů (Walter et al., 2002) včetně cukrů (Kehr et al., 1998) ovlivňují růst listů a intenzita růstu může odrážet intenzitu buněčného dělení. Tato denní rytmicita byla zjištěna u různých rostlinných druhů (Walter a Schurr, 2005). Mutanti tabáku *Nicotiana tabacum* (Geiger et al., 1995) i huseníčku *Arabidopsis thaliana* (Wiese et al., 2007) s poškozenou dráhou syntézy škrobu rostou ve dne rychleji než kontrola, zatímco v noci pomaleji. Lze to vysvětlit změnou dostupnosti hexóz, které ve dne nejsou spotřebovávány na tvorbu škrobu a v noci naopak nejsou uvolňovány jeho rozkladem (Wiese et al., 2007). Zřejmě tu půjde o obecnější mechanismus ovlivnění růstu (a zřejmě také buněčného cyklu), protože podobná denní rytmicita růstu byla pozorována i pro kořeny (Aguirrezabal et al., 1994; Muller et al., 1998; Nagel et al., 2006). Sacharidy také mají vliv na expresi řady genů jejichž aktivita se během dne periodicky mění (Bläsing et al., 2005).

Většina poznatků o ovlivnění buněčného cyklu sacharidy je však na úrovni ovlivnění genové exprese. Zpravidla se ukazuje stimulační účinek sacharidů na různé proteiny buněčného cyklu, což je ve shodě s jejich pozorovaným stimulačním účinkem na buněčné dělení. U *CycA2* byla pozorována výrazná stimulace exprese aplikací sacharózy u suspenzních buněčných kultur *Arabidopsis* (Richard et al., 2002) a cukrové řepy (Fowler et al., 1998). Exprese *CycD2;1* buněk *Arabidopsis* a tabáku taktéž úzce koreluje se zásobením cukry (Cockcroft et al., 2000). Obdobně u BY-2 buněk tabáku exprese *CycD2;1*, *CycD3;2*, *CycA3;2* a *CycB1;2* odpovídá endogenní hladině monosacharidů a její změnou může být modifikována délka S a G2 fáze (Hartig, 2005). *CycD3;1* však v uvedených experimentech nevykazoval zřejmou závislost na endogenních hladinách sacharidů (Hartig, 2005). Exogenní aplikace sacharózy na vyhladovělé suspenzní buněčné kultury vedla k výraznému zvýšení exprese *CycD2;1*, *CycD3;1* a *CycD4;1* (De Veylder et al., 1999; Richard et al., 2002; Soni et al., 1995). Podobné výsledky jsou i pro CDK. Exprese *CDKA;1* u suspenzních buněčných kultur *Arabidopsis* a rajčete i kořenů rajčete byla zvýšena aplikací

sacharózy či glukózy (De Veylder et al., 1999; Joubes et al., 2001; Richard et al., 2002). Exprese *CDKB1* i *CDKB2* byla u rajčete také závislá na přísunu exogenní sacharózy i glukózy (Joubes et al., 2001), i když u *Arabidopsis* byl pozorovaný jen malý vliv sacharózy na *CDKB1;1*. Richard se spolupracovníky (2002) také pozorovali snížení endogenní hladiny inhibitorů buněčného cyklu KRP po dodání sacharózy, což opět podporuje představu stimulačního účinku cukrů na buněčné dělení.

Riou-Khamlichi se spolupracovníky (2000) se blíže zabývali vlivem sacharózy na cykliny třídy CycD. Pozorovali stimulaci CycD2 i CycD3 u suspenzních buněčných kultur a rostlin *Arabidopsis*. Hladiny *mRNA CycD2* vzrostly během 30 minut po přidání sacharózy, zatímco hladina *mRNA CycD3* se zvýšila až po 4 hodinách. Podle autorů to odpovídá zvýšení exprese *CycD2* v časně G1 a *CycD3* v pozdní G1 před vstupem do S fáze buněčného cyklu. Tato indukce je navíc pro uvedené cykliny zprostředkována odlišnými signálními drahami. Uplatňují se v nich rozdílné kinázy a signál vychází z různých senzorů. Z pokusů s nemetabolizovatelnými sacharidy vyplývá, že indukce exprese *CycD2* je závislá na hexokináze, zatímco *CycD3* nikoliv.

2.2.3. Interakce sacharidů a cytokininů v regulaci buněčného cyklu

K interakcím cukrů a cytokininů může docházet na různých úrovních. Základní úroveň je samotné generování signálu a hladiny cukrů jsou zřejmě pod kontrolou cytokininů. Aktivita extracelulární invertázy je pod kontrolou různých fytohormonů (např. Goetz et al., 2000), také cytokininů. Ty mají obecně stimulační efekt na buněčné dělení a protože zřejmě ovlivňují také řadu dějů s tím spojených, dal by se očekávat jejich stimulační účinek na příjem cukrů buňkami. V souladu s touto představou cytokininy zvyšují expresi extracelulární invertázy (Ehness a Roitsch, 2000; Roitsch et al., 2003). Konkrétně to bylo pozorováno na rajčeti (*Lycopersicon esculentum*) (Godt a Roitsch, 1997), čekance (*Cichorium*) (Lefebvre et al. 1992) a merlíku (*Chenopodium rubrum*) (Ehness a Roitsch, 1997). Cytokininy také zvyšují expresi hexózových přenašečů plazmatické membrány merlíku (Ehness a Roitsch, 1997; Ehness a Roitsch, 2000). Již bylo zmíněno, že cytokininy oddalují senescenci a právě hexózové přenašeče se spolu s extracelulární invertázou ukázaly pro tento účinek cytokininů klíčové (Balibera et al., 2004). Cytokininy tak mohou kontrolovat samotný vznik cukerného signálu v závislosti na predispozicích daného pletiva. Zřejmě však také cukry zpětně ovlivňují cytokininy. U květních plátků karafiátu (*Dianthus caryophyllus*) vedla aplikace sacharózy

k oddálení jejich senescence a zabránění zvýšení exprese řady genů reagujících na etylen včetně *CKX*, což bývá za normálních okolností mechanismem spouštějícím senescenci. Velmi podobných výsledků bylo dosaženo také aplikací thiosulfátu stříbrného (STS), který brání běžným projevům senescence blokováním etylenového receptoru. Sacharóza by tedy mohla oddalovat senescenci snižováním exprese *CKX* inhibicí etylenové signalizace (Hoeberichts et al., 2007).

Již bylo zmíněno, že endogenní hladiny cytokininů jednak oscilují během buněčného cyklu (Hartig a Beck, 2005a; Nishinari et Syono, 1986; Redig et al., 1996), dne (Nováková et al., 2005) a také reagují jako celek na vnější podněty, včetně změny exogenní hladiny cytokininů (Kuiper et al., 1988; Hartig a Beck, 2005a). Kromě vlastních exogenních hladin sacharidů je tak vznik cukerného signálu prostřednictvím cytokininů závislý také na vnějších vlivech a konkrétní fázi buněčného cyklu (Hartig a Beck, 2006). Během dne oscilují také endogenní hladiny sacharidů a také jsou závislé na dalších vlivech (Geiger a Servaites, 1994; Kehr et al., 1998) a je tedy možné odlišné vzájemné ovlivňování těchto dvou signálů v závislosti na denní době. Také by to podporovalo hypotézu jejich vzájemného vlivu na běh vnitřních hodin rostliny, jak bude podrobněji zmíněno v kapitole o fotomorfogenezi.

Jinou úrovní interakcí cukrů a cytokininů je společné ovlivňování exprese genů neúčastnících se přímo jejich metabolismu. O samostatném účinku cytokininů či cukrů na expresi genů podstatných pro regulaci buněčného cyklu již bylo pojednáno v předchozích kapitolách. V dalším textu se pokusím zaměřit na geny, jejichž exprese je ovlivňována sacharidy i cytokininy společně. Zatímco u některých genů se výsledky různých autorů shodují, u jiných jsou v přímém rozporu. Zásadní rozdíly nebyly zjištěny u *CycD4;1*, *CycB1;1*, *CycD3;2* a *CycA3;2*. Exprese *CycD4;1* byla zvýšena exogenní aplikací sacharózy (De Veylder et al., 1999) i její kombinací s cytokininy (Richard et al., 2002). Exprese *CycB1;1* byla synergicky stimulována auxiny a cytokininy (Richard et al., 2002). Sacharóza samotná měla mírně stimulační účinek, ale v kombinaci s auxiny a cytokininy naopak mírně inhibovala (Richard et al., 2002). Exprese *CycD3;2* a *CycA3;2* byla synergicky stimulována monosacharidy i cytokininy (Hartig, 2005). Rozdílných výsledků bylo dosaženo při sledování exprese *CycD2;1* a *CycD3;1*. U BY-2 buněk tabáku byla exprese *CycD2;1* stimulována monosacharidy a inhibována cytokininy, exprese *CycD3;1* byla naopak stimulována cytokininy a inhibována monosacharidy (Hartig, 2005). Naproti tomu u *Arabidopsis* byla exprese *CycD2;1* synergicky stimulována sacharózou i cytokininy a stejně také *CycD3;1* (Richard et al., 2002; Riou-Khamlichi et al., 2000). Jedno z možných vysvětlení je původem buněk. Jak již bylo uvedeno u samotných cytokininů. Chování BY-2 buněk tabáku

by odpovídalo buňkám kořenového meristému, které dostatečně produkují cytokininy, ale vyžadují exogenní stimulaci auxiny. Suspenze *Arabidopsis* by pak svým chováním odpovídaly meristémům prýtu. Tuto hypotézu podporuje zjištění Hartiga a Becka (2005a), že aplikace cytokininů vede k prodloužení buněčného cyklu BY-2 buněk. Vysoká koncentrace cytokininů tedy zřejmě inhibuje jejich dělení (Hartig a Beck, 2006). Již bylo ale zmíněno, že vztah signálu sacharidů a cytokininů je komplexní problém závislý na řadě dalších faktorů včetně jejich vlastních endogenních i exogenních hladin. Bez experimentálního potvrzení tedy zatím nelze jednoznačně určit důvod jejich odlišného účinku a výše uvedená úvaha o původu buněk je tak prozatím jen hypotézou.

2.3. Fotomorfogeneze

Mnoho rostlinných pochodů je ovlivňováno také světlem. Dle toho, zda světlo je či není, se určuje den a noc a mohl by to být hlavní signál pro seřízení vnitřních rostlinných hodin. Rostliny však vnímají také hladinu ozáření a rozlišují mezi některými jeho rozdílnými vlnovými délkami, na které přednostně reagují. Při vysokém ozáření je například potřeba syntetizovat ochranné látky, aby se zabránilo poškození světlem. Růst do délky je jako nepotřebný zpravidla inhibován a mění se také uskupení fotosyntetizujících částí, aby na ně dopadalo méně záření. Je-li naopak světla nedostatek, rostliny se většinou snaží růst do délky a dosáhnout v prostoru lepší polohy s větší ozářeností. Změna v zastoupení jednotlivých vlnových délek ve spektru je přitom signálem o povaze zastínění. Fotosyntetizující rostliny, narozdíl od jiných překážek, snižují poměr krátkovlnného červeného (dále R) k dlouhovlnnému (dále FR) světlu (v literatuře bývá často označován red/far-red) a řada rostlin na takové zastínění reaguje odlišně od stínu s nezměněným poměrem R/FR. Pro směřování růstu některých částí rostlin je také důležité, odkud světlo přichází (Procházka et al., 1998).

Jsou známy dvě hlavní skupiny proteinů fungující jako receptory pro tři odlišné vlnové délky. Kryptochromy monitorují modré světlo, zatímco fytochromy R a FR. Liší se přitom odezva formy fytochromu na R světlo (označovaná Pr) a na FR (označovaná Pfr). Kromě uvedených dvou fotoreceptorů existuje ještě třetí typ, fototropiny. Monitorují modré světlo a uplatňují se zřejmě právě v určení směru přicházejícího světla. O jejich účinku je však známo výrazně méně informací, než u fytochromů a kryptochromů (Procházka et al., 1998).

Pro interakce s dalšími signály je podstatná především interakce Cop1 a Hy5. Cop1 je E3 ubiquitin ligáza, která zřejmě interaguje s kryptochromy (Wang et al., 2001; Yang et al., 2001) a funguje jako negativní regulátor fotomorfogenetické odpovědi (Bauer et al., 2004; Ma et al., 2002). Mutanti s nefunkčním Cop1 se i ve tmě chovají jako rostliny na světle (Kwok et al., 1996). Substráty Cop1 pro ubiquitinaci jsou pozitivní regulátory fotomorfogenetické odpovědi, například transkripční faktor Hy5 (Ang et al., 1998). Právě regulace množství Hy5 prostřednictvím Cop1 je zřejmě základem signalizace kryptochromů (Wang et al., 2001; Yang et al., 2001). Ve tmě je Hy5 degradován pomocí Cop1, zatímco na světle způsobí signál kryptochromů nárůst hladiny Hy5 ovlivněním Cop1 (Vandenbussche et al., 2007; Yang et al., 2001).

2.3.1. Vztah mezi sacharidy a fotomorfogenetickými signály

Nejvíce poznatků o vztahu světelného a sacharidového signálu vychází ze studia morfogeneze listů. Pokusy na *Arabidopsis thaliana* totiž odhalily zajímavou skutečnost, morfogeneze listové čepele a řapíku jsou řízeny odlišnými procesy (Donnelly et al., 1999; Tsukaya et al., 2002). Během zastínění reagují opačně. Zatímco zvětšování čepele je zastaveno, či alespoň zpomaleno, prodloužování řapíku je naopak zrychleno (Nagatani et al., 1991; Reed et al., 1993; Tsukaya et al., 2002). Je to pochopitelné v kontextu optimalizace polohy listu pro maximální fotosyntézu, řapík se snaží svým prodloužením umístit čepel mimo zastínění a zároveň je zbytečným plýtváním energií vytvářet čepel v místě slabého osvětlení, a tedy neefektivní fotosyntézy. Sacharidy se uplatňují v regulaci řady růstových pochodů a ovlivňují také velikost listů *Arabidopsis thaliana* (Leon a Sheen, 2003; Moore et al., 2003), což naznačuje možné interakce se světelným signálem (Kozuka et al., 2005). Logicky by se dal předpokládat vliv produktů fotosyntézy na růst listů. Jedna z možných cest by mohla vést přes regulaci signalizace ABA a etylénu (Kozuka et al., 2005). Signalizace ABA a cukrů je zřejmě úzce svázána a některé mutanty defektní v sacharidové odpovědi se ukázaly totožné s mutanty signalizace či biosyntézy ABA (viz. Gibson, 2005), například gen *Arabidopsis* sucrose uncoupled-6 je identický s genem ABA-insensitive *ABI4* (Huijser et al., 2000). U mutantu *prl1* se zvýšenou citlivostí k sacharidům byla zvýšena také citlivost k ABA (Németh et al., 2007). Obecně lze říci, že vůči cukernému signálu účinkuje ABA pozitivně a etylén negativně (Arroyo et al., 2003; Gibson et al., 2001; Laby et al., 2000; Yanagisawa et al., 2003). Exprese genu *ABA2* zahrnutého v biosyntéze ABA je zvyšována glukózou více v řapíkách než v čepelích (Cheng et al., 2002) a některé geny biosyntézy

etylénu jsou ovlivňovány světlem (Vandenbussche et al., 2003). Cukry by pak prostřednictvím vlivu na ABA a etylén regulovaly růst listů.

Reakce inhibice růstu čepele a posílení růstu řapíku byla pozorována nejen při ozáření bílým, ale také modrým, R i FR světlem. Zřejmě by tedy signál neměl vycházet z jediného fotoreceptoru, ale z kryptochromů i fytochromů. Z pokusů s mutanty v genech pro fytochromy, kryptochromy a fototropiny vyplývá vliv fytochromu B (PhyB) na růst čepele při R a kryptochromu 1 (Cry1) při modrém světle. Podobně růst řapíku ovlivňují PhyB při R a Cry1 a Cry2 při modrém světle (Kozuka et al., 2005). Sacharóza stimulovala růst čepele ve tmě, zatímco na bílém světle ho spíše inhibovala a pro stimulaci růstu řapíku byla ve tmě optimální vyšší koncentrace sacharózy než na světle. U řapíku ve tmě a čepele tedy sacharóza jakoby posiluje účinek světelného signálu, zatímco u řapíku na světle účinkuje antagonisticky proti světelnému signálu

V reakci sacharózy na R a modré světlo se zřejmě opravdu uplatňují odlišné mechanismy. Listové čepele mutantů deficientních v ABA (*aba1*, *aba2*, *aba3*) se nezvětšovaly na modrém světle, ale na R rostly normálně. U mutantu *ctr1* se stálou signalizací etylénu potlačující cukerný signál (Gibson et al., 2001; Cheng et al., 2002) je růst čepele i řapíku snížen na modrém světle. Navíc mutant necitliví k etylénu (*ein2*, *etr1*) mají při nižších hladinách ozáření větší listy než kontrola (Vandenbussche et al., 2003). Stimulační vliv sacharózy by tedy mohl být zprostředkován drahou alespoň částečně společnou ABA a negativně ovlivňován etylénem (Kozuka et al., 2005). Podle chování mutantů deficientních v ABA by na tuto dráhu mohl mít vliv také signál kryptochromů. Již bylo zmíněno, že světlo zvyšovalo účinek sacharózy na růst řapíků, ale spíše inhibovalo růst čepele. Vliv signálu fotoreceptorů na cukerný tedy může být odlišný dle konkrétního pletiva.

Kromě uvedených účinků na morfogenezi listů je také známo, že exprese některých genů proteinů fotosyntézy, konkrétně pro chlorofyl a/b vážící proteiny (CAB), malou podjednotku ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxylázy (RBSC) a plastocyanin (PC), je indukována světlem (shrnutí v Thompson a White, 1991) a reprimována sacharózou (Dijkwel et al., 1996). Sacharóza inhibuje odpověď na FR světlo. Inhibovala otevírání děloh, snižuje citlivost k tomuto světlu pro inhibici růstu hypokotylu a blok zelenání semenáčků způsobený FR světlem (Dijkwel et al., 1997).

2.3.2. Vztah mezi cytokininy a fotomorfogenetickými signály

Poznatky o vztahu cytokininového a světelného signálu vycházejí z prací zabývajících se jejich konkrétními účinky. Tyto práce se zpravidla zabývají zvláště vlivem červeného a modrého světla. Lze je tedy snadno rozdělit na část zabývajících se souvislostmi cytokininů se signalizací kryptochromů a souvislostmi se signalizací cytochromů. Tohoto členění se podržím i v následujícím textu.

2.3.2.1. Signalizace cytokininů a kryptochromů

Aplikace cytokininů u rostlin pěstovaných ve tmě imituje účinek světla (Chory et al., 1994; Deikman a Hammer, 1995). Etiolované semenáče mají s cytokininy kratší hypokotyl, vyvinuté dělohy a někdy tvoří i normální listy (Chory et al., 1994). V kulturách *in vitro* navíc exogenní cytokininy podporují zelenání a tvorbu prýtlů z kalusu, což nápadně připomíná mutanty v Cop1, případně i dalších podjednotkách signalozómů Cop1 a Cop2 (Su a Howell, 1995; Vandenbussche et al., 2007; Vogel et al., 1998).

Jak bylo výše uvedeno, kryptochromy i cytokininy mají inhibiční vliv na růst hypokotylu. Modré světlo inhibovalo prodlužování hypokotylu u semenáčů *Arabidopsis*. Cytokininy u kontrolních rostlin posilovaly tuto odezvu na světlo, ale při vysokém ozáření k tomuto posílení již nedocházelo. Zřejmě tedy signály kryptochromů a cytokininů působí aditivně a při vysokém ozáření je kapacita společné části signální dráhy plně saturována světelným signálem (Vandenbussche et al., 2007). Ve tmě způsobovaly cytokininy obdobné změny. Světelný signál tedy není pro účinek cytokininů nutný.

Podle obecně uznávaného modelu je inhibiční účinek cytokininů zprostředkován zvýšenou produkcí ethylénu způsobenou stabilizací enzymu syntázy kyseliny aminocyklopropan-1-karboxylové (ACC) (Chae et al., 2003). Mutanty necitlivé k ethylénu by tedy měly být rezistentní vůči cytokininům. Zatímco ve tmě to bylo skutečně pozorováno, na modrém světle tyto mutanty proti očekávání vykazovaly citlivost k cytokininům. Zdá se tedy, že cytokininy účinkují dvěma odlišnými signálními drahami a u rostlin na světle inhibují růst hypokotylu dráhou odlišnou od té zahrnující etylén (Vandenbussche et al., 2007). Autoři dále pozorovali, že mutanti v Cop nereagovali na cytokininy ve tmě ani na modrém světle a obsahovali vysoké hladiny antokyanů. Naproti tomu mutanti v Hy5 vykazovali na modrém světle snížení hladiny antokyanů v reakci na cytokininy. Signál kryptochromů by tedy měl být zprostředkován Cop1 a Hy5 a jeho interakce se signálem cytokininů bude zřejmě právě na úrovni těchto proteinů.

Odlišné dráhy přenosu cytokininového signálu přitom budou mít odlišné vztahy k Hy5. Zatímco ve tmě uplatňovaná dráha závislá na etylénu nevyžaduje účinek Hy5, inhibice růstu hypokotylu je na světle zřejmě částečně zprostředkována Hy5 a ještě nějakým dalším mechanismem (Vandenbussche et al., 2007). Stejně jako cytokininy reguluje signál kryptochromů pozitivně hladiny transkriptů enzymů biosyntézy antokyanů. Hy5 je transkripční faktor vážící se také na promotory těchto genů (Cluis et al., 2004; Gao et al., 2004) a v reakci na signál kryptochromů zřejmě ovlivňuje hladinu antokyanů posílením jejich exprese. Protože však u mutantu *hy5* docházelo také k indukci těchto genů, existuje zřejmě i v odezvě na signál kryptochromů ještě další, dosud nespecifikovaný, transkripční faktor reagující na cytokininy (Vandenbussche et al., 2007).

V kontextu uvedených poznatků je zajímavé také pozorování Cluis a spolupracovníků (2004), kdy jsou kalusy mutantu *hy5* při tvorbě prýtlů rezistentní k cytokininům. Naznačuje, že účinek cytokininů prostřednictvím Hy5 může být obecnější, než jen v regulaci fotomorfogenetických procesů. Obdobně mutanty v proteinech signální dráhy zahrnující Cop1 (*cop1-5*, *det1-1*, *cop10/cin4*) vykazují necitlivost k cytokininům (Chory et al., 1994; Vogel et al., 1998; Yanagawa et al., 2004).

2.3.2.2. Signalizace cytokininů a fytochromů

Signál cytokininů se stýká také se signálem fytochromů. Regulátor cytokininové odpovědi ARR4 přímo interaguje s fytochromem B. Stabilizuje jeho aktivní Pfr formu a tak zvyšuje její obsah v buňkách. Nadexprese ARR4 způsobuje hypersenzitivitu k R světlu a cytokininy tak zřejmě ovlivňují signalizaci R světla právě prostřednictvím ARR4 (Sweere et al., 2001). Spolu s ARR3 jsou zřejmě zodpovědné za správný průběh denní periody vnitřních hodin *Arabidopsis* (Salomé et al., 2006). Cytokininy u *Arabidopsis* ovlivňují běh vnitřních hodin také změnou exprese genů uplatňujících se v jejich řízení. Indukují expresi Late Elongated Hypocotyl (*LHY*), Circadian Clock-Associated 1 (*CCA1*) a naopak inhibují expresi Timing of Cab Expression 1 a jejich účinek je závislý na fytochromu B i ARR4. Zřejmě by tedy ARR4 mohl sloužit k integraci signálu cytokininů a R světla pro ovlivnění denní rytmicity a tím i dalších procesů v rostlině (Zheng et al., 2006).

Signál fotoreceptoru FR světla fytochromu A by však mohl působit také obdobnou drahou jako kryptochromy, zahrnující Hy5. Mutant *hy5* měl na FR světle výrazně snížené hladiny antokyanů a nereagoval na cytokininy (Vandenbussche et al., 2007). Možné také je, že se uvedené dráhy navzájem ovlivňují. Stýkat by se mohly také na úrovni Hy5. Represor

odpovědi fytochromu A na FR záření Spa1 interaguje s Cop1 a v závislosti na světle stimuluje jeho ubiquitin ligázovou aktivitu na Hy5 (Saijo et al., 2003). Vlastní interakce Cop1 a Hy5 by tedy mohla být centrálním regulačním bodem odpovědi na cytokininy, modré a červené světlo.

2.3.3. Vztah sacharidového a cytokininového signálu k fotomorfogenezi

Na úzký vztah signálů sacharidů, cytokininů a fotoreceptorů poukazuje mutace *prll* způsobující u *Arabidopsis* hypersenzitivitu ke glukóze a sacharóze. Zvyšuje také expresi některých světlem indukovaných genů a vede ke zrušení represe transkripce některých genů regulovaných glukózou a cytokininy (Németh et al., 2007). U mutantu *Nicotiana plumbaginifolia* rezistentního k zeatinu (*zea3*) vedl přidavek sacharózy do média k represí některých světlem regulovaných genů uplatňujících se v metabolismu dusíku a fotosyntéze, zatímco u kontrolních rostlin k tomu nedocházelo (Faure et al., 1994). Zdá se tedy, že účinek cytokininů je nutný pro správnou integraci cukerného a světelného signálu. Mutant také narozdíl od kontroly nerozevíral dělohy a pro jeho růst byl potřebný nízký poměr uhlíku k dusíku, způsobený zřejmě zvýšenou citlivostí k cukrům, jako sacharóze, glukóze, fruktóze i xylóze. Mannitol však neměl na růst mutantu vliv a jev tedy není způsoben změnou osmotických poměrů. Zvýšená citlivost k exogenním cukrům by mohla souviset s pozorovanou zvýšenou akumulací endogenních cukrů (Faure et al., 1994). Je tedy možné vysvětlení, že odrušení zeatinového signálu způsobilo posílení signálu cukerného, který podobně jak bylo výše uvedeno (viz. Dijkwel et al., 1997) inhiboval rozevření děloh. Etiolované semenáčky mutantu pěstované ve tmě naopak nevykazují rezistenci k cytokininům a citlivost k vyššímu poměru uhlíku k dusíku. Stále však nerozevírají dělohy. Světelný signál má tedy vliv také zpětně na signalizaci cytokininů. Naskýtá se vysvětlení, že se podle světla uplatňují různé dráhy signalizace cytokininů, přičemž produkt genu *Zea3* je zahrnutý jen v té uplatňující se na světle. Možná existence odlišných drah cytokininové signalizace je již zmíněna v textu o ovlivnění signálu kryptochromů a cytokininů, kde u mutantů necitlivých k ethylénu byla rezistence k cytokininům pozorována naopak pouze ve tmě (Vandenbussche et al., 2007). Je tedy také možné, že různé signalizační dráhy cytokininů běží stále a signál rozlišující světlo a tmu jen jakoby přepíná jejich dopad na různé rostlinné procesy. V kontextu konkrétního sledovaného děje by se pak při mutaci v proteinu jedné dráhy jevilo, že ho cytokininy podle světla ovlivňují, či nikoliv. Fakt, že mutanti ve tmě mají stále sevřené dělohy by pak nebyl způsoben vlastní mutací, která se ve tmě u sledovaných

dějů neuplatňuje, ale naopak funkční signalizací kdy se stejně jako u normálních rostlin dělohy otevírají až na světle.

Jedna z uvedených hypotetických signálních drah účinku cytokininů je, jak již bylo uvedeno, závislá na etylénu, zatímco druhá na Hy5 (viz. Vandenbussche et al., 2007). V kapitole o samotném vlivu sacharidů je také uveden předpoklad minimálně dvou odlišných signálních drah. Z nichž jednu sdílí sacharóza alespoň částečně s ABA a je inhibována etylénem (viz. Kozuka et al., 2005). Myslím, že by mohlo být zajímavé, jak spolu uvedené dráhy interagují. V některých případech vede účinek cytokininů i sacharidů k podobným výsledkům a uvedené dráhy by se tedy mohly stýkat. Nasvědčoval by tomu i pozorovaný účinek etylénu v signalizaci cytokininů i sacharidů.

Výše uvedené interakce signálu cytokininů a sacharidů by však mohly mít obecnější význam, než jen v regulaci vlastních fotomorfogenetických procesů. V předchozí kapitole zmíněný vliv světla a cytokininů na běh vnitřních hodin rostliny je totiž zajímavý v kontextu informací zmíněných u regulace buněčného cyklu. Endogenní hladiny sacharidů i cytokininů vykazují během dne periodické změny a je možné, že jsou značnou měrou zodpovědné za správný průběh denního cyklu. Naskytá se tedy myšlenka, že fytochromy generují signál, který ovlivňuje účinek cytokininů (případně i sacharidů) na vnitřní hodiny, a tím mění jejich potenciální zpětný účinek na tyto látky.

3. Závěr

Cytokiny i sacharidy ovlivňují v rostlinách řadu dějů. Je známo mnoho jejich jednotlivých vlivů, ale o společném působení těchto látek víme stále velice málo. K možným interakcím jejich signálů se pozornost obrací teprve poslední dobou. Kromě vlastního ovlivňování navzájem se jejich souhra jeví podstatná především pro regulaci buněčného cyklu a některých dějů ovlivňovaných světlem. Mohly by se tak uplatňovat v řízení vnitřních hodin rostlin. K ověření této myšlenky však ještě bude potřeba mnoho dalších experimentů a prakticky jediné, co lze v současné době říci s jistotou, je fakt, že se signální dráhy cytokininů a sacharidů vzájemně ovlivňují a vytvářejí složitou regulační síť.

Poděkování

Na závěr této práce bych rád poděkoval RNDr. Heleně Lipavské, Phd. za trpělivost a cenné připomínky k této práci. Dále patří můj dík ostatním členům mé rodiny, kolegům z Laboratoře tkáňových kultur a Botanické zahrady hl. m. Prahy za trpělivost a psychickou podporu.

Použitá literatura

- Aguirrezabal L.A.N., Deleens E., Tardieu F.:** Root elongation rate is accounted for by intercepted PPDF and source–sink relations in field and laboratory grown sunflower - *Plant, Cell & Environment* 17: 443–450, 1994
- Ang L.H., Chattopadhyay S., Wei N., Oyama T., Okada K., Batschauer A., Deng X.W.:** Molecular interaction between COP1 and HY5 defines a regulatory switch for light control of Arabidopsis development - *Mol. Cell* 1: 213–222, 1998
- Arroyo A., Bossi F., Finkelstein R.R., Leon P.:** Three genes that affect sugar sensing (abscisic acid insensitive 4, abscisic acid insensitive 5, and constitutive triple response 1) are differentially regulated by glucose in Arabidopsis - *Plant Physiology* 133: 231–242, 2003
- Asher D.J., Reay P.F.:** Arsenic uptake by barley seedlings - *Journal of Plant Physiol.* 6: 459–466, 1979
- Avonce N., Leyman B., Mascorro-Gallardo J.O., Van Dijck P., Thevelein J.M., Iturriaga G.:** The Arabidopsis trehalose 6- phosphate synthase AtTPS1 gene is a regulator of glucose, abscisic acid and stress signalling - *Plant Physiol.* 136: 3649–3659, 2004
- Avonce N., Leyman B., Thevelein J., Iturriaga G.:** Trehalose metabolism and glucose sensing in plants – *Biochemical Society Transactions* 33: 276–279, 2005
- Avonce N., Mendoza-Vargas A., Morett E., Iturriaga G.:** Insights on the evolution of trehalose biosynthesis - *BMC Evol Biol* 6: 109, 2006
- Balibrea Lara M. E., Gonzalez Garcia M.-C., Fatima T., Ehness R., Lee T.K., Tanner W., Roitsch T.:** Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence - *Plant Cell* 16, 1276–1287, 2004
- Bauer D., Viczian A., Kircher S., Nobis T., Nitschke R., Kunkel T., Panigrahi K.C.S., Adam E., Fejes E., Schafer E., Nagy F.:** Constitutive photomorphogenesis 1 and multiple photoreceptors control degradation of phytochrome interacting factor 3, a transcription factor required for light signalling in Arabidopsis - *Plant Cell* 16: 1433–1445, 2004
- Bisova K., Krylov D.M., Umen J.G.:** Genome-wide annotation and expression profiling of cell cycle regulatory genes in *Chlamydomonas reinhardtii* - *Plant Physiology* 137: 475–491, 2005
- Bläsing O.E., Gibon Y., Gunther M., Hohne M., Morcuende R., Osuna D., Thimm O., Usadel B., Scheible W.R., Stitt M.:** Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression in Arabidopsis - *Plant Cell* 17: 3257–3281, 2005

- Bleeker P.M., Hakvoort H.W.J., Blik M., Souer E., Schat H.:** Enhanced arsenate reduction by a CDC25-like tyrosine phosphatase explains increased phytochelatin accumulation in arsenate-tolerant *Holcus lanatus* – *The Plant Journal* 45: 917-929, 2006
- Bobrowicz P., Wysocki R., Owsianik G., Goffeau A., Ulaszewski S.:** Isolation of three contiguous genes, ASR1, ASR2 and ASR3, involved in resistance to arsenic compounds in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* - *Yeast* 13: 819–828, 1997
- Boudolf V., Inzé D., De Veylder L.:** What if higher plants lack a CDC25 phosphatase? – *Trends in Plant Science* 11: 474-479, 2006
- Boudolf V., Vlieghe K., Beemster G.T.S., Magyar Z., Acosta J.A.T., Maes S., Van Der Schueren E., Inzé D., De Veylder L.:** The Plant-Specific Cyclin-Dependent Kinase CDKB1;1 and Transcription Factor E2Fa-DPa Control the Balance of Mitotically Dividing and Endoreduplicating Cells in *Arabidopsis* - *Plant Cell* 16: 2683–2692, 2004
- Brenner W.G., Romanov G.A., Köllmer I., Bürkle L., Schmülling T.:** Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades – *The Plant Journal* 44: 314-333, 2005
- Burssens S., de Almeida Engler J., Beeckman T., Richard C., Shaul O., Ferreira P., Van Montagu M., Inzé D.:** Developmental expression of the *Arabidopsis thaliana* CycA2;1 gene - *Planta* 211: 623–631, 2000
- Cluis C.P., Mouchel C.F., Hardtke C.S.:** The *Arabidopsis* transcription factor HY5 integrates light and hormone signaling pathways - *The Plant Journal* 38: 332–347, 2004; citováno z Vandenbussche et al., 2007
- Cockcroft C.E., Den Boer B.G.W., Healy J.M.S., Murray J.A.H.:** Cyclin D control of growth rate in plants. *Nature* 405: 575-579, 2000
- Cooke R., Meyer Y.:** Hormonal-control of tobacco protoplast nucleic-acid metabolism during in vitro culture - *Planta* 152: 1-7, 1981
- Corbesier L., Prinsen E., Jacquemard A., Lejeune P., Van Onckelen H., Périlleux C., Bernier G.:** Cytokinin levels in leaves, leaf exudate and shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana* during floral transition - *Journal of Experimental Botany* 54: 2511-2517, 2003
- Corellou F., Camasses A., Ligat L., Peaucellier G., Bouget F.Y.:** Atypical regulation of a green lineage-specific B-type cyclin-dependent kinase - *Plant Physiology* 138: 1627–1636, 2005
- Costa S., Shaw P.:** Chromatin organization and cell fate switch respond to positional information in *Arabidopsis* – *Nature* 439: 493-496, 2006
- D'Agostino I., Deruère J., Kieber J.J.:** Characterization of the response of the *Arabidopsis* ARR gene family to cytokinin – *Plant Physiology* 124: 1706-1717, 2000
- D'Agostino I.B., Kieber J.J.:** Molecular mechanisms of cytokinin action – *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 359-364, 1999
- De Veylder L., Engler J.D., Burssens S., Manevski A., Lescure B., Van Montagu M., Engler G., Inze D.:** A new D-type cyclin of *Arabidopsis thaliana* expressed during lateral root primordia formation – *Planta* 208: 453–462, 1999
- Deikman J., Hammer P.E.:** Induction of anthocyanin accumulation by cytokinins in *Arabidopsis thaliana* - *Plant Physiology* 108: 47–57, 1995
- Dhankher O.P., Rosen B.P., McKinney E.C., Meagher R.B.:** Hyperaccumulation of arsenic in the shoots of *Arabidopsis* silenced for arsenate reductase (ACR2) - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 103: 5413-5418, 2006
- Dickinson J.R., Cole D., Halford N.G.:** A cell cycle role for a plant sucrose nonfermenting-1-related protein kinase (SnRK1) is indicated by expression in yeast – *Plant Growth Reg.* 28: 169-174, 1999

- Dijkwel P.P., Huijser C., Weisbeek P.J., Chua N.-H., Smeekeens S.C.M.:** Sucrose Control of Phytochrome A Signaling in Arabidopsis – *Plant Cell* 9: 583-595, 1997
- Dijkwel P.P., Kock P.A.M., Bezemer R., Weisbeek P.J., Smeekeens S.C.M.:** Sucrose represses the developmentally controlled transient activation of the plastocyanin gene in Arabidopsis thaliana seedlings - *Plant Physiology* 110: 455-463, 1996
- Donnelly P.M., Bonetta D., Tsukaya H., Dengler R.E., Dengler N.G.:** Cell cycling and cell enlargement in developing leaves of Arabidopsis - *Dev. Biol.* 215: 407–419, 1999; citováno z Kozuka et al., 2005
- Duan G.-L., Zhu Y.-G., Tong Y.-P., Cai C., Kneer R.:** Characterization of arsenate reductase in the extract of root and fronds of chinese brake fern, an arsenic hyperaccumulator - *Plant Physiol.* 138: 461–469, 2005
- Eastmond P.J., Li Y., Graham I.A.:** Is trehalose-6-phosphate a regulator of sugar metabolism in plants? – *Journal of Experimental Botany* 54: 533-537, 2003
- Eastmond P.J., van Dijken A.J., Spielman M., Kerr A., Tissier A.F., Dickinson H.G., Jones J.D., Smeekeens S.C., Graham I.A.:** Trehalose-6-phosphate synthase 1, which catalyses the first step in trehalose synthesis, is essential for Arabidopsis embryo maturation - *The Plant Journal* 29: 223-235, 2002
- Ehness R., Roitsch T.:** Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose transporter in *Chenopodium rubrum* by cytokinins – *The Plant Journal* 11: 539-548, 1997
- Ehness R., Roitsch T.:** Regulation of source/sink relations by cytokinins – *Plant Growth Reg.* 32: 359–367, 2000.
- Ellis D.R., Gumaelius L., Indriolo E., Pickering I.J., Banks J.A., Salt D.E.:** A Novel Arsenate Reductase from the Arsenic Hyperaccumulating Fern *Pteris vittata* – *Plant Physiology* 141: 1544-1554, 2006
- Farinas B., Mary C., de O Manes C.L., Bhaud Y., Peaucellier G., Moreau H.:** Natural synchronisation for the study of cell division in the green unicellular alga *Ostreococcus tauri* - *Plant Mol. Biol.* – 60: 277–292, 2006
- Faure J.-D., Jullien M., Caboche M.:** Zea3: a pleiotropic mutation affecting cotyledon development, cytokinin resistance and carbon-nitrogen metabolism – *The Plant Journal* 5: 481-491, 1994
- Ferreira F.J., Kieber J.J.:** Cytokinin signaling – *Curr. Opin. Plant Biol.* 8: 518-525, 2005
- Fountain M.D., Valdes O., Fettig S., Beck E.:** Expression of cell cycle control factors in non-dividing and ageing photoautotrophic plant cells – *Physiologia Plantarum* 119: 30–39, 2003
- Fowler M.R., Kirby M.J., Scott N.W., Slater A., Elliott M.C.:** Induction of cell division related genes in quiescent (G0) sugar beet cells – *Physiologia Plantarum* 102: 61-70, 1998
- Franco-Zorrilla J.M., Martin A.C., Solano R., Rubio V., Leyva A., Paz-Ares J.:** Mutations at CRE1 impair cytokinin-induced repression of phosphate starvation responses in Arabidopsis - *The Plant Journal* 32: 353-360, 2002
- Gao Y., Li J., Strickland E., Hua S., Zhao H., Chen Z., Qu L., Deng X.W.:** An Arabidopsis promoter microarray and its initial usage in the identification of HY5 binding targets in vitro - *Plant Mol. Biol.* 54: 683–699, 2004
- Geiger D.R., Servaites J.C.:** Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C3 plants - *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 235–256, 1994
- Geiger D.R., Shieh W.J., Yu X.M.:** Photosynthetic carbon metabolism and translocation in wild-type and starch-deficient mutant *Nicotiana glauca* L. - *Plant Physiology* 107: 507–514, 1995

- Gibson S.:** Control of plant development and gene expression by sugar signaling - *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 93–102, 2005
- Gibson S.I., Laby R.J., Kim D.:** The sugar-insensitive1 (sis1) mutant of *Arabidopsis* is allelic to *ctr1* - *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280: 196–203, 2001
- Goddijn O.J.M., Verwoerd T.C., Voogd E., Krutwagen R.W., de Graaf P.T., van Dun K., Poels J., Ponstein A.S., Damm B., Pen J.:** Inhibition of trehalase activity enhances trehalose accumulation in transgenic plants - *Plant Physiol.* 113: 181–190, 1997
- Godt D.E., Roitsch T.:** Regulation and tissue-specific distribution of mRNAs for three extracellular invertase isoenzymes of tomato suggests an important function in establishing and maintaining sink metabolism - *Plant Physiology* 115: 273–282, 1997
- Goetz M., Goedt D.E., Roitsch T.:** Tissue-specific induction of the mRNA for an extracellular invertase isoenzyme of tobacco by brassinosteroids suggests a role for steroid hormones in assimilate partitioning - *The Plant Journal* 22: 512–522, 2000
- Gonzalez N., Hernould M., Delmas F., Gévaudant F., Duffe P., Causse M., Mouras A., Chevalier Ch.:** Molecular characterization of a WEE1 gene homologue in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) - *Plant Mol. Biol.* 56: 849–861, 2005
- Halford N.G., Purcell P.C., Hardie D.G.:** Is hexokinase really a sugar sensor in plants? - *Trends Plant Sci.* 4: 117–120, 1999
- Halford N.G.:** Regulation of Carbon and Amino Acid Metabolism: Roles of Sucrose Nonfermenting-1-Related Protein Kinase-1 and General Control Nonderepressible-2-Related Protein Kinase - *Advances in Botanical Research* 43: 93–142, 2006
- Hartig K., Beck E.:** Assessment of lovastatin application as tool in probing cytokinin-mediated cell cycle regulation - *Physiologia Plantarum* 125, 260–267, 2005b
- Hartig K., Beck E.:** Crosstalk between auxin, cytokinins, and sugars in the plant cell cycle - *Plant Biology* 8: 1–8, 2006.
- Hartig K., Beck E.:** Endogenous cytokinin oscillations control cell cycle progression of tobacco BY-2 cells - *Plant Biology* 7, 33–41, 2005a
- Hartig K.:** Zellteilungsregulation meristematischer Wurzelzellen (Tabak BY-2) durch Phytohormone und Zucker. PhD Thesis, University of Bayreuth, 2005; citováno z Hartig a Beck, 2006.
- Hemerly A.S., Ferreira P., de Almeida Engler J., Van Montagu M., Engler G., Inzé D.:** *cdc2a* expression in *Arabidopsis* is linked with competence for cell division - *Plant Cell* 5: 1711–1723, 1993
- Heyer A. G., Raap M., Schroeer B., Marty B., Willmitzer L.:** Cell wall invertase expression at the apical meristem alters floral, architectural, and reproductive traits in *Arabidopsis thaliana* - *The Plant Journal* 39, 161–169, 2004
- Higuchi M., Pischke M.S., Mähönen A.P., Miyawaki K., Hashimoto Y., Seki M., Kobayashi M., Shinozaki K., Kato T., Tabata S., Helariutta Y., Sussman M.R., Kakimoto T.:** In planta functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101: 8821–8826, 2004
- Hoerberichts F.A., van Doorn W.G., Vorst O., Hall R.D., van Wordragen M.F.:** Sucrose prevents up-regulation of senescence-associated genes in carnation petals - *Journal of Experimental Botany*, online July 13, 2007
- Huijser C., Kortstee A., Pego J., Weisbeek P., Wisman E., Smeekens S.:** The *Arabidopsis* SUCROSE UNCOUPLED-6 gene is identical to ABSCISIC ACID INSENSITIVE-4: involvement of abscisic acid in sugar responses - *The Plant Journal* 23: 577–585, 2000
- Hwang I., Sheen J.:** Two-component circuitry in *Arabidopsis* signal transduction - *Nature* 413: 383–389, 2001

- Chae H.S., Faure F., Kieber J.J.:** The *eto1*, *eto2*, and *eto3* mutations and cytokinin treatment increase ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by increasing the stability of ACS Protein - *Plant Cell* 15: 545–559, 2003
- Cheng W.H., Endo A., Zhou L., Penney J., Chen H.C., Arroyo A., Leon P., Nambara E., Asami T., Seo M., Koshiba T., Sheen J.:** A unique short-chain dehydrogenase/reductase in *Arabidopsis* glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions - *Plant Cell* 14: 2723–2743, 2002
- Chory J., Reinecke D., Sim S., Washburn T., Brenner M.:** A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis* (*det* mutants have an altered response to cytokinins) - *Plant Physiology* 104: 339–347, 1994
- Jang J.-C., Sheen J.:** Sugar sensing in higher plants – *Plant Cell* 6: 1665–1679, 1994
- Ji G., Garber E.A.E., Armes L.G., Chen C.M., Fuchs J.A., Silver S.:** Arsenate reductase of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 - *Biochemistry* 33: 7294–7299, 1994
- John P.C.L., Zhang K.:** Cytokinin control of cell proliferation in plant development. In: Francis D. (ed) *The Plant Cell Cycle and its Interfaces*. Sheffield Academic Press, Sheffield UK and CRC USA, 190–211, 2001
- Joubes J., Lemaire-Chamley M., Delmas F., Walter J., Hernould M., Mouras A., Philippe R., Chevalier Ch.:** A new C-type cyclin-dependent kinase from tomato expressed in dividing tissues does not interact with mitotic and G1 cyclins – *Plant Physiology* 126: 1403–1415, 2001
- Kamínek M.:** Rostlinné hormony a jejich praktické využití – *Živa* 5: 201–203, 2002
- Kehr J., Hustiak F., Walz C., Willmitzer L., Fisahn J.:** Transgenic plants changed in carbon allocation pattern display a shift in diurnal growth pattern - *The Plant Journal* 16: 497–503, 1998
- Khadaroo B., Robbens S., Ferraz C., Derelle E., Eychenié S., Cooke R., Peaucellier G., Delseny M., Demaille J., Van de Peer Y., Picard A., Moreau H.:** The First Green Lineage *cdc25* Dual-Specificity Phosphatase – *Cell Cycle* 3 (4): 104–109, 2004
- Kiba T., Yamada H., Sato S., Kato T., Tabata S., Yamashino T., Mizuno T.:** The Type A response regulator, *ARR15*, acts as a negative regulator in the cytokinin-mediated signal transduction in *Arabidopsis thaliana* - *Plant Cell Physiol.* 44: 868–874, 2003
- Kolbe A., Tiessen A., Schluepmann H., Paul M., Ulrich S., Geigenberger P.:** Trehalose 6-phosphate regulates starch synthesis via post-translational redox activation of ADPglucose pyrophosphorylase - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102: 11118–11123, 2005
- Kormish J.D., McGhee J.D.:** The *C. elegans* lethal gut-obstructed *gob-1* gene is trehalose-6-phosphate phosphatase. *Dev Biol* 287: 35–47, 2005
- Kovářová H., Hajdúch M., Kořínková G., Halada P., Krupičková S., Gouldaworthy A., Zhelev N., Strnad M.:** Proteomics approach in classifying the biochemical basis of the anticancer activity on the new olomoucine derived synthetic cyclin-dependent kinase inhibitor, boheminine – *Electrophoresis* 21: 3757–3764, 2000
- Kozuka T., Horiguchi G., Kim G.-T., Ohgishi M., Sakai T., Tsukaya H.:** The Different Growth Responses of the *Arabidopsis thaliana* Leaf Blade and the Petiole during Shade Avoidance are Regulated by Photoreceptors and Sugar – *Plant Cell Physiol.* 46: 213–223, 2005
- Kuiper D., Schuit J., Kuiper P.J.C.:** Effects of internal and external cytokinin concentrations on root growth and shoot to root ratio of *Plantago major* ssp. *pleiosperma* at different nutrient conditions - *Plant and Soil* 111, 231–236, 1988
- Kwok S.F., Piekos B., Misera S., Deng X.W.:** A complement of ten essential and pleiotropic *arabidopsis* *COP/DET/ FUS* genes is necessary for repression of photomorphogenesis in darkness - *Plant Physiology* 110: 731–742, 1996

- Laby R.J., Kincaid M.S., Kim D., Gibson S.I.:** The Arabidopsis sugar-insensitive mutants *sis4* and *sis5* are defective in abscisic acid synthesis and response - *The Plant Journal* 23: 587–596, 2000
- Landrieu, I., da Costa, M., De Veylder, L., Dewitte F., Vandepoele K., Hassan S., Wieruszeski J.-M., Faure J.-D., Van Montagu M., Inzé D., Lippens G.:** A small CDC25 dual-specificity tyrosine-phosphatase isoform in *Arabidopsis thaliana* - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101: 13380–13385, 2004a
- Landrieu, I., Hassan, S., Sauty, M., Dewitte, F., Wieruszeski, J.M., Inze, D., De Veylder, L., Lippens, G.:** Characterization of the *Arabidopsis thaliana* AtCDC25 dual-specificity tyrosine phosphatase - *Biochem. Biophys. Res. Co.* 322: 734–739, 2004b
- Laueys F., Smets R., Lenjou M., van Bockstaele D., Inzé D., van Onckelen H.:** A low content in zeatin type cytokinins is not restrictive for the occurrence of G1/S transition in tobacco BY-2 cells – *FEBS Lett.* 460: 123–128, 1999
- Laurie S., McKibbin R.S., Halford N.G.:** Antisense SNF1-related (SnRK1) protein kinase gene represses transient activity of an α -amylase (α -Amy2) gene promoter in cultured wheat embryos – *Journal of Experimental Botany* 54: 739–747, 2003
- Lefebvre R., Vasseur J., Backoula E., Coullerot J.P.:** Participation of carbohydrate metabolism in the organogenic orientation of *Cichorium intybus* tissues cultivated in vitro. - *Can. J. Bot.* 70: 1897–1902, 1992
- Leon P., Sheen J.:** Sugar and hormone connections - *Trends Plant Sci.* 8: 110–116, 2003
- Ma L., Gao Y., Qu L., Chen Z., Li J., Zhao H., Deng X.W.:** Genomic evidence for COP1 as a repressor of light-regulated gene expression and development in *Arabidopsis* - *Plant Cell* 14: 2383–2398, 2002
- Maruyama-Nakashita A., Nakamura Y., Yamaya T., Takahashi H.:** A novel regulatory pathway of sulfate uptake in *Arabidopsis* roots: implication of CRE1/WOL/AHK4-mediated cytokinin-dependent regulation - *The Plant Journal* 38: 779–789, 2004
- Mason M.G., Li J., Mathews D.E., Kieber J.J., Schaller G.E.:** Type-B response regulators display overlapping but distinct expression patterns in *Arabidopsis* – *Plant Physiology* 135: 927–937, 2004
- McKibbin R.S., Halford N.G., Francis D.:** Expression of fission yeast *cdc25* alters the frequency of lateral root formation in transgenic tobacco - *Plant Mol. Biol.* 36: 601–612, 1998
- Moore B., Zhou L., Rolland F., Hall Q., Cheng W.H., Liu Y.X., Hwang I., Jones T., Sheen J.:** Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling - *Science* 300: 332–336, 2003
- Muller B., Stosser M., Tardieu F.:** Spatial distribution of tissue expansion and cell division rates are related to irradiation and to sugar content in the growing zone of maize roots - *Plant, Cell & Environment* 21: 149–158, 1998
- Nagata T., Ishida S., Hasezawa S., Takahashi Y.:** Genes involved in the dedifferentiation of plant cells - *Int. J. Dev. Biol.* 38: 321–327, 1994
- Nagatani A., Chory J., Furuya M.:** Phytochrome-B is not detectable in the Hy3 mutant of *Arabidopsis*, which is deficient in responding to end-of-day far-red light treatments - *Plant Cell Physiol.* 32: 1119–1122, 1991; citováno z Kozuka et al., 2005
- Nagel K.A., Schurr U., Walter A.:** Dynamics of root growth stimulation in *Nicotiana tabacum* in increasing light intensities - *Plant, Cell & Environment* 29: 1936–1945, 2006
- Neufeld T.P., de la Cruz A.F., Johnston L.A., Edgar B.A.:** Coordination of growth and cell division in the *Drosophila* wing - *Cell* 93: 1183–1193, 1998
- Nishimura C., Ohashi Y., Sato S., Kato T., Tabata S., Ueguchi C.:** Histidine Kinase Homologs That Act as Cytokinin Receptors Posses Overlapping Functions in the Regulation of Shoot and Root Growth in *Arabidopsis* – *Plant Cell* 16: 1365–1377, 2004

- Nishinari N., Syono K.:** Induction of cell-division synchrony and variation of cytokinin contents through the cell-cycle in tobacco cultured-cells – *Plant Cell Physiol.* 27: 147-153, 1986
- Nováková M., Motyka V., Dobrev P.I., Malbeck J., Gaudinová A., Vanková R.:** Diurnal variation of cytokinin, auxin and abscisic acid levels in tobacco leaves – *Journal of Experimental Botany* 56: 2877-2883, 2005
- Orchard C.B., Siciliano I., Sorrell D.A., Marchbank A., Rogers H.J., Francis D., Herbert R.J., Suchomelova P., Lipavska H., Azmi A., Van Onckelen H.:** Tobacco BY-2 cells expressing fission yeast *cdc25* bypass a G2/M block on the cell cycle - *The Plant Journal* 44: 290–299, 2005
- Paul M.:** Trehalose 6-phosphate – *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 303-309, 2007
- Pellny T.K., Ghannoum O., Conroy J.P., Schluepmann H., Smeekens S., Andralojc J., Krause K.-P., Goddijn O., Paul M.J.:** Genetic modification of photosynthesis with *E. coli* genes for trehalose synthesis - *Plant Biotechnology J* 2: 71-82, 2004
- Petzold E.W., Himmelreich U., Mylonakis E., Rude T., Toffaletti D., Cox G.M., Miller J.L., Perfect J.R.:** Characterisation and regulation of the trehalose synthesis pathway and its importance in the pathogenicity of *Cryptococcus neoformans* – *Infect. Immun.* 74: 5877-5887, 2006
- Pien S., Wyrzykowska J., Fleming A.J.:** Novel marker genes for early leaf development indicate spatial regulation of carbohydrate metabolism within the apical meristem - *The Plant Journal* 25: 663-674, 2001
- Planchais S., Glab N., Tréhin C., Prennes C., Bureau J.-M., Meijer L., Burgounious C.:** Rascovitine, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, characterizes restriction point and G2/M transition in tobacco BY-2 cell suspension – *The Plant Journal* 12: 191-202, 1997
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kol.:** *Fyziologie rostlin*, Academia Praha, 1998
- Purcell P.C., Smith A.M., Halford N.G.:** Antisense expression of a sucrose nonfermenting-1-related protein kinase sequence in potato results in decreased expression of sucrose synthase in tubers and loss of sucrose-inducibility of sucrose synthase transcripts in leaves – *The Plant Journal* 14: 195-202, 1998
- Ramon M., Rolland F., Thevelein J.M., Van Dijck P., Leyman B.:** ABI4 mediates the effects of exogenous trehalose on *Arabidopsis* growth and starch breakdown - *Plant Mol. Biol.* 63: 195-206, 2007
- Rashotte A.M., Carson S.D.B., To J.P.C., Kieber J.J.:** Expression profiling of cytokinin action in *Arabidopsis* - *Plant Physiol.* 132: 1998-2011, 2003
- Redig P., Shaul O., Inze D., Van Montagu M., Van Onckelen H.:** Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells - *FEBS Lett.* 391: 175-180, 1996
- Reed J.W., Nagpal P., Poole D.S., Furuya M., Chory J.:** Mutations in the gene for the red/far-red light receptor phytochrome B alter cell elongation and physiological responses throughout *Arabidopsis* development - *Plant Cell* 5: 147–157, 1993
- Richard C., Lescot M., Inzé D., De Veylder L.:** Effect of auxin, cytokinin, and sucrose on cell cycle gene expression in *Arabidopsis thaliana* cell suspension cultures – *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 69: 167–176, 2002
- Riou-Khamlichi C., Huntley R., Jacquemard A., Murray J.A.H.:** Cytokinin Activation of *Arabidopsis* Cell Division Through a D-Type Cyclin – *Science* 283: 1541-1544, 1999
- Riou-Khamlichi C., Menges M., Healy J.M.S., Murray J.A.H.:** Sugar control of the cell cycle: Differential regulation of *Arabidopsis* D-type cyclin gene expression – *Mol. Cell. Biol.* 20: 4513-4521, 2000

- Robbens S., Khadaroo B., Camasses A., Derelle E., Ferraz C., Inzé D., Van der Peer Y., Moreau H.:** Genome-wide analysis of core cell cycle genes in the unicellular green alga *Ostreococcus tauri* - *Mol. Biol. Evol.* 22: 589–597, 2005
- Roitsch T., Balibrea M.E., Hofmann M., Proels R., Sinha A.K.:** Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein - *Journal of Experimental Botany* 54: 513–524, 2003
- Rolland F., Moore B., Sheen J.:** Sugar sensing and signaling in plants – *Plant Cell* 14: S185–S205, 2002
- Rolland F., Sheen J.:** Sugar sensing and signalling networks in plants – *Biochem. Soc. Trans.* 33: 269–271, 2005
- Rosen B.P.:** Biochemistry of arsenic detoxification - *FEBS Lett.* 529: 86–92, 2002
- Saijo Y., Sullivan J.A., Wang H., Yang J.P., Shen Y., Rubio V., Ma L., Hoecker U., Deng X.W.:** The COP1-SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity - *Genes Dev.* 17: 2642–2647, 2003
- Sakai H., Honma T., Aoyama T., Sato S., Kato T., Tabata S., Oka A.:** Arabidopsis ARR1 is a transcription factor for genes immediately responsive to cytokinins - *Science* 294: 1519–1521, 2001
- Salomé P.A., To J.P., Kieber J.J., McClung C.R.:** Arabidopsis response regulators ARR3 and ARR4 play cytokinin-independent roles in the control of circadian period - *Plant Cell* 18: 55–69, 2006
- Sheen J., Zhou L., Jang J.C.:** Sugars as signalling molecules – *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 410–508, 1999
- Sherson S.M., Alford H.L., Forbes S.M., Wallace G., Smith S.M.:** Roles of cell-wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of *Arabidopsis* – *Journal of Experimental Botany* 54: 525–531, 2003
- Shcherbata H.R., Althausen C., Findley S.D., Ruohola-Baker H.:** The mitotic-to-endocycle switch in *Drosophila* follicle cells is executed by Notch-dependent regulation of G1/S, G2/M and M/G1 cell-cycle transitions - *Development* 131: 3169–3181, 2004
- Schluepmann H., Pellny T., van Dijken A., Smeekens S., Paul M.:** Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana* – *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 100: 6849–6854, 2003
- Schluepmann H., van Dijken A., Aghdasi M., Wobbes B., Paul M., Smeekens S.:** Trehalose Mediated Growth Inhibition of Arabidopsis Seedlings Is Due to Trehalose-6-Phosphate Accumulation – *Plant Physiology* 135: 879–890, 2004
- Schultze-Galmen U., Brandsen J., Jones H.D., Morgan D.O., Meijer L., Vesely J., Kim S.H.:** Multiple –modes of ligand recognition – crystal structures of cyclin-dependent protein-kinase-2 in complex with ATP and 2 inhibitors, olomoucine and isopentenyladenine – *Proteins-structure function and genetics* 22: 378–391, 1995; citováno z Francis a Sorrell, 2001
- Smeekens S.:** Sugar-induced signal transduction in plants – *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 49–81, 2000
- Soni R., Carmichael J.P., Shah Z.H., Murray J.A.:** A family of cyclin D homologs from plants differentially controlled by growth regulators and containing the conserved retinoblastoma protein interaction motif – *Plant Cell* 7: 85–103, 1995
- Sorrell D.A., Francis D.:** The interface between the cell cycle and plant growth regulators: a mini review – *Plant Growth Reg.* 33: 1–12, 2001
- Sorrell D.A., Chrimes D., Dickinson J.R., Rogers H.J., Francis D.:** The Arabidopsis CDC25 induces a short cell length when overexpressed in fission yeast: evidence for cell cycle function – *New Phytologist* 165: 425–428, 2005

- Sorrell D.A., Marchbank A., McMahon K., Dickinson J.R., Rogers H.J., Francis D.:** A WEE1 homologue from *Arabidopsis thaliana* - *Planta* 215: 518–522, 2002
- Sorrell D.A., Menges M., Healy J.M.S., Deveaux Y., Amano Ch., Su Y., Nakagami H., Shinmyo A., Doonan J.H., Sekine M., Murray J.A.H.:** Cell Cycle Regulation of Cyclin-Dependent Kinases in Tobacco Cultivar Bright Yellow-2 Cells - *Plant Physiology* 126: 1214–1223, 2001
- Spíchal L., Kryštof V., Paprskářová M., Lenobel R., Stýskala J., Binarová P., Cenklová V., De Veylder L., Inzé D., Kontopidis G., Fischer P.M., Schmölling T., Strnad M.:** Classical Anticytokinins do not Interact with Cytokinin Receptors, but Inhibit Cyclin-Dependent Kinases – *Journal of Biological Chemistry* 282: 14356–14363, 2007
- Su W., Howell S.H.:** The effects of cytokinin and light on hypocotyl elongation in *Arabidopsis* seedlings are independent and additive - *Plant Physiology* 108: 1423–1430, 1995
- Sugden Ch., Donaghy P.G., Halford N.G., Hardie D.G.:** Two SNF1-Related Protein Kinases from Spinach Leaf Phosphorylate and Inactivate 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase, Nitrate Reductase, and Sucrose Phosphate Synthase in Vitro – *Plant Physiology* 120: 257–274, 1999
- Suchomelová P., Velgová D., Mašek T., Francis D., Rogers H.J., Marchbank A.M., Lipavská H.:** Expression of the fission yeast cell cycle regulator *cdc25* induces de novo shoot formation in tobacco: evidence of a cytokinin-like effect by this mitotic activator – *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 49–55, 2004
- Sun Y., Dilkes B.P., Zhang Ch., Dante R.A., Carneiro N.P., Lowe K.S., Jung R., Gordon-Kamm W.J., Larkins B.A.:** Characterization of maize (*Zea mays* L.) Wee1 and its activity in developing endosperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 4180–4185, 1999
- Sweere U., Eichenberg K., Lohrmann J., Mira-Rodado V., Baurle I., Kudla J., Nagy F., Schafer E., Harter K.:** Interaction of the response regulator ARR4 with phytochrome B in modulating red light signalling - *Science* 294: 1108–1111, 2001
- Ševčíková H.:** Mechanismy vnímání hladin sacharidů a sacharidová signalizace u rostlin – bakalářská práce, Univerzita Karlova, Praha, 2007
- Takei K., Sakakibara H., Taniguchi M., Sugiyama T.:** Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator - *Plant Cell Physiol* 42: 85–93, 2001
- Takei K., Takahashi T., Sugiyama T., Yamaya T., Sakakibara H.:** Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin - *Journal of Experimental Botany* 53: 971–977, 2002
- Thompson W.F., Whote M.J.:** Physiological and molecular studies of light-regulated nuclear genes in higher plants – *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.* 42: 423–466, 1991; citováno z Dijkwel et al., 1997
- To J.P.C., Haberer G., Ferreira F.J., Deruère J., Mason M.G., Schaller G.E., Alonso J.M., Ecker J.R., Kieber J.J.:** Type-A ARRs are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling in *Arabidopsis* - *Plant Cell* 16: 658–671, 2004
- Toroser D., Plaut Z., Huber S.C.:** Regulation of a plant SNF1-related protein kinase by glucose-6-phosphate - *Plant Physiology* 123: 403–411, 2000
- Tsukaya H., Kozuka T., Kim G.T.:** Genetic control of petiole length in *Arabidopsis thaliana* - *Plant Cell Physiol.* 43: 1221–1228, 2002
- Vandenbussche F., Habricot Y., Condiff A.S., Maldiney R., Van Der Straeten D., Ahmad M.:** HY5 is a point of convergence between cryptochrome and cytokinin signalling pathways in *Arabidopsis thaliana* – *The Plant Journal* 49, 428–441, 2007

- Vandenbussche F., Vriezen W.H., Smalle J., Laarhoven L.J., Harren F.J., Van Der Straeten D.:** Ethylene and auxin control the Arabidopsis response to decreased light intensity - *Plant Physiology* 133: 517–527, 2003
- Vandepoele K., Raes J., DeVeylder L., Rouzé P., Rombauts S., Inzé D.:** Genome-Wide Analysis of Core Cell Cycle Genes in Arabidopsis – *Plant Cell* 14: 903-916, 2002
- Verkest A., Manes C.L.O., Vercruysse S., Maes S., Schueren E.V.D., Beeckman T., Genschik P., Kuiper M., Inzé D., De Veylder L.:** The Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor KRP2 Controls the Onset of the Endoreduplication Cycle during Arabidopsis Leaf Development through Inhibition of Mitotic CDKA;1 Kinase Complexes - *Plant Cell* 17: 1723–1736, 2005
- Vesely J., Havlíček L., Strnad M., Blow J.J., Donella-Deana A., Pinna L., Letham D.S., Kato J., Detivaud L., Leclerc S., Meijer L.:** Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues – *Eur. J. Biochem.* 224: 771-786, 1994
- Vogel J.P., Schuerman P., Woeste K., Brandstatter I., Kieber J.J.:** Isolation and characterization of Arabidopsis mutants defective in the induction of ethylene biosynthesis by cytokinin - *Genetics* 149: 417–427, 1998
- Walter A., Feil R., Schurr U.:** Restriction of nyctinastic movements and application of tensile forces to leaves affects diurnal patterns of expansion growth - *Functional Plant Biology* 29: 1247–1258, 2002
- Walter A., Schurr U.:** Dynamics of leaf and root growth: endogenous control versus environmental impact - *Annals of Botany* 95: 891–900, 2005
- Wang H., Ma L.G., Li J.M., Zhao H.Y., Deng X.W.:** Direct interaction of Arabidopsis cryptochromes with COP1 in light control development - *Science* 294: 154–158, 2001
- Wang T.L., Everett N.P., Gould A.R., Street H.P.:** Studies on the control of the cell cycle in cultured plant cells. The effects of cytokinin – *Protoplasma* 106: 23-35, 1981; citováno z D'Agostino a Kieber, 1999
- Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Van Onckelen H., Schmülling T.:** Cytokinin-Deficient Transgenic Arabidopsis Plants Show Multiple Developmental Alterations Indicating Opposite Functions of Cytokinins in the Regulation of Shoot and Root Meristem Activity - *Plant Cell* 15: 2532–2550, 2003
- Wiese A., Christ M.M., Virnich O., Schurr U., Walter A.:** Spatio-temporal leaf growth patterns of Arabidopsis thaliana and evidence for sugar control of the diel leaf growth cycle – *New Phytologist* 174: 752-761, 2007
- Wobus U., Weber H.:** Sugars as signal molecules in plant seed development – *Journal of Biological Chemistry* 380: 937-944, 1999
- Wyrzykowska J., Pien S., Shen W.H., Fleming A.J.:** Manipulation of leaf shape by modulation of cell division - *Development* 129: 957-964, 2002
- Xiao W., Sheen J., Jang J.-Ch.:** The role of hexokinase in plant sugar signal transduction and growth and development – *Plant Mol. Biol.* 44: 451-461, 2000
- Yamaguchi M., Kato H., Yoshida S., Yamamura S., Uchimiya H., Umeda M.:** Control of in vitro organogenesis by cyclindependent kinase activities in plants – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 8019-8023, 2003
- Yanagawa Y., Sullivan J.A., Komatsu S., Gusmaroli G., Suzuki G., Yin J., Ishibashi T., Saijo Y., Rubio V., Kimura S., Wang J., Deng X.W.:** Arabidopsis COP10 forms a complex with DDB1 and DET1 in vivo and enhances the activity of ubiquitin conjugating enzymes - *Genes Dev.* 18: 2172–2181, 2004
- Yanagisawa S., Yoo S.D., Sheen J.:** Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signalling in plants - *Nature* 425: 521–525, 2003
- Yang H.Q., Tang R.H., Cashmore A.R.:** The signalling mechanism of Arabidopsis CRY1 involves direct interaction with COP1 - *Plant Cell* 13: 2573–2587, 2001

- Yuan K., Wysocka-Diller J.:** Phytohormone signalling pathways interact with sugars during seed germination and seedling development – *Journal of Experimental Botany* 57: 3359-3367, 2006
- Zhang K., Diederich L., John P.C.L.:** The Cytokinin Requirement for Cell Division in Cultured *Nicotiana plumbaginifolia* Cells Can Be Satisfied by Yeast Cdc25 Protein Tyrosine Phosphatase. Implications for Mechanisms of Cytokinin Response and Plant Development - *Plant Physiology* 137: 308–316, 2005
- Zhang K., Letham D.S., John P.C.L.:** Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34cdc2-like H1 histone kinase - *Planta* 200: 2–12, 1996
- Zheng B., Deng Y., Mu J., Ji Z., Xiang T., Niu Q.W., Chua N.-H., Zuo J.:** Cytokinin affects circadian-clock oscillation in a phytochrome B- and Arabidopsis response regulator 4-dependent manner - *Phys. Plantarum* 127: 277–232, 2006